

|                                      |                    |             |
|--------------------------------------|--------------------|-------------|
| (51) Int.Cl. <sup>7</sup>            | F 1                | テーマコード (参考) |
| GO 1 N 35/08                         | GO 1 N 35/08 A     | 2 G 0 5 7   |
| GO 1 N 21/05                         | GO 1 N 35/08 D     | 2 G 0 5 8   |
| GO 1 N 21/27                         | GO 1 N 21/05       | 2 G 0 5 9   |
| GO 1 N 37/00                         | GO 1 N 21/27 C     |             |
|                                      | GO 1 N 37/00 1 0 1 |             |
| 審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 28 頁) 最終頁に続く |                    |             |

|           |                              |            |                                |
|-----------|------------------------------|------------|--------------------------------|
| (21) 出願番号 | 特願2003-196082 (P2003-196082) | (71) 出願人   | 000005968                      |
| (22) 出願日  | 平成15年7月11日 (2003. 7. 11)     |            | 三菱化学株式会社                       |
|           |                              |            | 東京都港区芝五丁目 3 3 番 8 号            |
|           |                              | (74) 代理人   | 100092978                      |
|           |                              |            | 弁理士 真田 有                       |
|           |                              | (72) 発明者   | 高山 英士                          |
|           |                              |            | 神奈川県横浜市青葉区鴨志田町 1 0 0 0 番地      |
|           |                              |            | 株式会社三菱化学科学技術研究センター内            |
|           |                              | F ターム (参考) | 2G057 AA04 AA20 AB07 BA05 BB01 |
|           |                              |            | BB02 BB06 BD01 CA05 CB03       |
|           |                              |            | DA11 DC06 DC07 GA06            |
|           |                              |            | 2G058 BA01 DA07 EA19 FA07 GA06 |
|           |                              |            | 2G059 AA05 BB04 BB12 CC16 DD03 |
|           |                              |            | DD12 EE02 EE07 GG10 KK01       |
|           |                              |            | KK02 KK04 KK06                 |

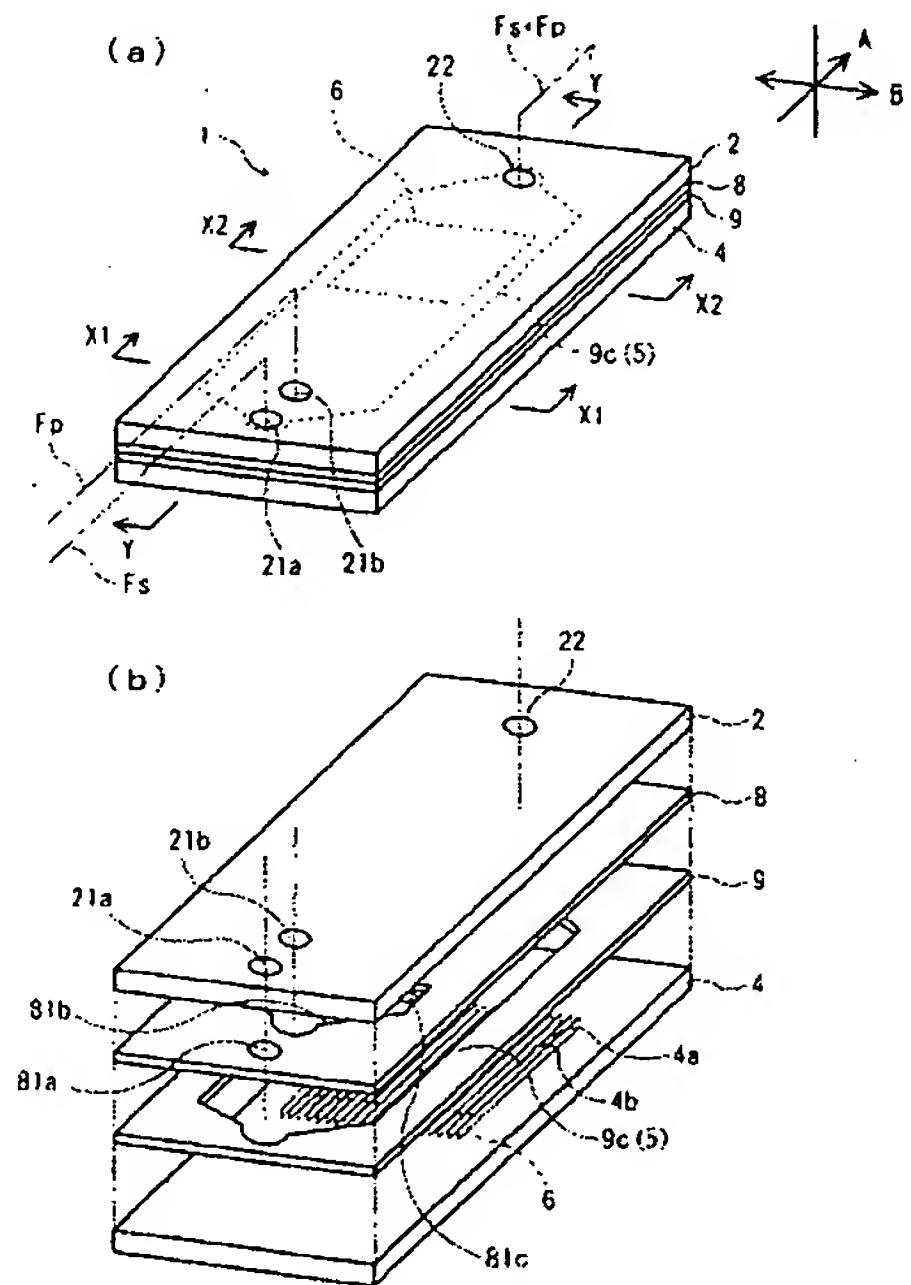
(54) 【発明の名称】 分析用チップ及び分析方法

(57) 【要約】

【課題】液体検体と何らかの液体とを混合しながら分析を行なう場合に、分析に要する液体検体の量を少量に抑えながら、効率よく且つ精密に分析を行なうことができる、分析用チップを提供する。

【解決手段】流路5に液体検体F sを流通させて、所定物質と、流路に固定される特定物質との相互作用に基づいて液体検体F sに関する分析を行なうのに使用される分析用チップ1において、流路5の上流部分に、流路5に液体を注入する複数の注入口8 1 a, 8 1 cを形成する。

【選択図】 図1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

流路に液体検体を流通させて、所定物質と、該流路に固定される特定物質との相互作用に基づいて該液体検体に関する分析を行なうのに使用される分析用チップにおいて、該流路の上流部分に、該流路に液体を注入する複数の注入口が形成されていることを特徴とする、分析用チップ。

## 【請求項2】

該注入口が、該流路の幅方向に一系列に形成された注入口群を含んで構成されていることを特徴とする、請求項1記載の分析用チップ。

## 【請求項3】

該注入口が、該流路の幅方向に連続的に形成されている長穴を含んで構成されていることを特徴とする、請求項1又は請求項2に記載の分析用チップ。

## 【請求項4】

該上流部分の少なくとも一部の流路幅が、該流路よりも小さく形成されていることを特徴とする、請求項1～3のいずれか1項に記載の分析用チップ。

## 【請求項5】

該上流部分が、カオティックミキサーとして構成されていることを特徴とする、請求項1～4のいずれか1項に記載の分析用チップ。

## 【請求項6】

該流路に、該特定物質が固定される面を備え、該面に、光の照射によりエバネッセント波を生じさせる回折格子と、表面プラズモン波を誘起しうる金属層とがそなえられていることを特徴とする、請求項1～5の何れか1項に記載の分析用チップ。

## 【請求項7】

請求項1～6のいずれか1項に記載の分析用チップを用いた分析方法であって、該複数の注入口を該液体検体に割り当て、該液体検体それぞれに対応する該注入口から該上流部分に該液体検体を注入して、該上流部分で該液体検体を混合した後、混合後の該液体検体を該流路に流通させて分析を行なうことを特徴とする、分析方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## 【発明の属する技術分野】

本発明は、流路に液体検体を流通させることにより液体検体の分析を行なうための分析用チップ、及び、それを用いた分析方法に関する。

## 【0002】

## 【従来の技術】

従来、液体検体と、チップに固定化された物質との反応あるいは結合の検出を行ない、一定時間に複数の分析を迅速に行なう技術が種々提案され、また、ハイスループット分析システムとして実用化されている。

このような技術としては、近年、DNAチップやプロテインチップ等のような分析用チップ（マイクロチャンネルチップ）が注目されている。

## 【0003】

マイクロチャンネルチップの中には、チップ本体に微小な横断面の流路が形成され、この流路を形成する壁面に上記の所定の化学物質と相互作用する物質（特定物質）が固定されているものがある。この流路に液体検体を流通させて、流路壁面の特定物質上を通過させたり、特定物質上で一旦停止させたりして液体検体と特定物質とを接触させることにより、液体検体中に所定の化学物質（所定物質）が含まれていれば、これを特定物質の相互作用として検出することができる。

## 【0004】

なお、DNAチップやプロテインチップにおいて特定物質をチップに高密度に固定化するための技術としては、例えば、ピン先に固定化対象物（特定物質）を保持させてスポットティングするスポットター〔Affymetrix417（登録商標）Arrayer等〕や

、インクジェット又はディスペンサーによりチップに固定化対象物を吹付けるものが知られている〔Tango（登録商標）Liquid Handling System等〕。

【0005】

また、このようなマイクロチャンネルチップに、SPR（サーフェスプラズモン共鳴）に基づく分析手法〔例えばBiacore（登録商標）がある〕を組み合わせれば、所定物質と特定物質とが結合－解離する過程をオンラインで検出することが可能である。

【0006】

近年、このような分析用チップについて様々な技術が提案されている。

例えば、非特許文献1には、基板と、複数のスリットが並列に設けられたシート部材とをそなえて構成されたチップが開示されている。この技術では、シート部材を基板にセットすると、上記の並列に配設されたスリットが基板上において並列流路として機能することとなる。

【0007】

そして、この並列流路にそれぞれ異なる流体を流通させて、流路底面、即ち、基板に、これらの流体を固定化し、次に、シート部材の向きを変え、基板にセットし直して、今度は先ほどの並列流路と交差するように基板上に並列流路を形成する。この流路にそれぞれ異なる流体を流通させ、先に基板に固定した流体と接触させる。つまり、1つのチップ上に多数の流体の組み合わせによりなる結合部をマトリックス状に形成して、分析の高密度化（集積化）を実現しようとしているのである。

【0008】

さらに、特許文献1には、並列に配置された流路にそれぞれ異なる液体検体を流通させ、1つのマイクロリアクタチップにより同時に複数種の液体検体について分析を行なうためのチップが開示されている。

【0009】

【特許文献1】

WO00/04390号公報

【非特許文献1】

Anal. Chem. 73, 22, pp. 5525, 2001

【0010】

【発明が解決しようとする課題】

ところで、上述したような分析用チップを用いて分析を行なう場合、液体検体を何らかの液体と混合させてから分析を行なうことがある。例えば、液体検体に溶媒を混合させて液体検体の濃度を調整してから分析を行なう場合、液体検体にpH調整用の液体を混合させて液体検体のpHを調整してから分析を行なう場合、ある液体検体と他の液体検体とを混合させてから分析を行なう場合などがある。

【0011】

このような場合には、一般に、液体検体を分析用チップに流通させる以前に、あらかじめ液体検体となんらかの液体あるいは固体とを別の工程で混合して試料（混合後の液体検体）を準備しておくことが行なわれている。しかし、このような場合には、混合に伴う効率の低下を招くことが多かった。例えば、異なる混合比率の試料を分析する場合には、分析しようとする混合比率毎に別々に試料を準備しなくてはならないため、操作が煩雑であった。また例えば、混合後の液体検体が経時変化する場合には、あらかじめ混合してから分析を行なうまでに時間を要するので、その経時変化を精密に分析することが困難であった。

【0012】

また、あらかじめ別の工程で試料を準備する方法のほかには、例えば分析用チップの上流に配管や混合槽などを設置し、分析用チップに液体検体を供給する以前に流れのなかで配管や混合槽などにおいて混合を行なうことも考えられる。しかし、流れの中で混合を行なう場合には、混合後、分析用チップに到着するまでの間で液体検体の濃度やpHなどが変

化する虞がある。具体例としては、別種の異なる液体をシリアル状に流す際、それら別種の液体が拡散により混合し、正確な分析を行なうことができない虞があった。また、それら別種の液体が互いに反応する場合には、分析を行なっている途中で想定しない反応が生じ、目的とする分析を行なうことができない虞がある。また、連続的にpHを変化させながら測定を行なう場合には、配管などを流れる途中で、流れ方向への拡散によって流れ方向での混合が生じてしまい、分析用チップに到着した時点では予定したpHとは異なるpHとなってしまうことがある。

【0013】

さらに、分析用チップ上流の配管や混合槽で混合を行なう場合には、大きなデッドボリュームが生じてしまう。マイクロチャンネルチップを使用して分析される液体検体中は、使用量が限られているものが多く、例えば、DNAチップやプロテインチップでは、液体検体は種々の生物から採取される物質、又は、生化学的に合成される各種の物質（DNA、RNA、PNA、ペプチド、タンパク等）であり、採取できる量が限定されたり、採取するのに大きな労力を必要とされることが多いため、その使用量をできるだけ少量にとどめたいという要望が強い。

したがって、デッドボリュームが生じるような混合方法は、上述したようなマイクロチャンネルチップのような分析用チップでは好ましくない。さらに、配管や混合槽を用いる場合には、設備の準備や点検に多くのコストを要し、また、漏れの可能性、チップ外部での温度や湿度などの変化、配管、チューブ、コネクタなどの閉塞、チューブやコネクタ材質との吸着など、効率よく精密な分析を行なうために解決すべき課題が数多くあった。

【0014】

本発明は、上記の課題に鑑みて創案されたもので、液体検体と何らかの液体とを混合しながら分析を行なう場合に、分析に要する液体検体の量を少量に抑えながら、効率よく且つ精密に分析を行なうことができるようにした、分析用チップ及び分析方法を提供することを目的とする。

【0015】

【課題を解決するための手段】

本発明の発明者は、鋭意検討の結果、分析用チップの上流部分に、分析用チップ内の流路に液体を導入する注入口を複数形成し、それらの注入口から、液体検体と、その液体検体に混合させる液体とを導入することで、混合を伴う分析においても、液体検体の量を少量に抑えながら、効率よく正確な分析を行なうことができることを見出し、本発明を完成させた。

【0016】

即ち、本発明の要旨は、流路に液体検体を流通させて、所定物質と、該流路に固定される特定物質との相互作用に基づいて該液体検体に関する分析を行なうのに使用される分析用チップにおいて、該流路の上流部分に、該流路に液体を注入する複数の注入口が形成されていることを特徴とする、分析用チップに存する（請求項1）。なお、ここで該注入口から該流路に注入される液体は、該液体検体に限定されるものではなく、本発明の分析用チップを用いた分析に応じて任意の液体を使用することができる。

【0017】

また、該注入口は、該流路の幅方向に一系列に形成された注入口群を含んで構成されていることが好ましく（請求項2）、また、該流路の幅方向に連続的に形成されている長穴を含んで構成されていることが好ましい（請求項3）。

【0018】

また、該上流部分の少なくとも一部の流路幅は、該流路よりも小さく形成されていることが好ましい（請求項4）。

また、該上流部分は、カオティックミキサーとして構成されていることが好ましい（請求項5）。

【0019】

また、該流路に、該特定物質が固定される面を備え、該面に、光の照射によりエバネッセ



ント波を生じさせる回折格子と、表面プラズモン波を誘起しうる金属層とが備わっていることが好ましい(請求項6)。

#### 【0020】

また、本発明の別の要旨は、上述した分析用チップを用いた分析方法であって、複数の該注入口を該液体検体に割り当て、該液体検体それぞれに対応する該注入口グループから該上流部分に該液体検体を注入して、該上流部分で該液体検体を混合した後、混合後の該液体検体を該流路に流通させて分析を行なうことを特徴とする、分析方法に存する(請求項7)。

#### 【0021】

##### 【発明の実施の形態】

以下、図面を参照して本発明の実施の形態について説明する。

なお、本発明でいう液体検体とは、例えば、抗原抗体反応、相補的なDNA結合、レセプタ／リガンド相互作用、酵素／基質相互作用等の相互作用を生じさせることができる物質であり、具体例を挙げると、たんぱく質、核酸、DNA、RNA、ペプチド、ホルモン、抗原、抗体、リガンド、レセプタ、酵素、基質、低分子有機化合物、細胞、イオン、及びこれらの複合体等の所定物質を含む(又は含む可能性のある)液体であり、サスペンション、コロイド等の分散系も含む。さらに、これらは必要に応じて蛍光物質、発光物質、放射性物質等により標識されていてもよい。

#### 【0022】

##### 〔1〕第1実施形態

図1～図3は本発明の第1実施形態としての分析用チップ1を示すもので、図1(a)はその模式的な組立斜視図、図1(b)はその模式的な分解斜視図、図2(a)は図1(a)のY-Y断面図、図2(b)は図1(a)のX1-X1断面図、図2(c)は図1(a)のX2-X2断面図、図3(a)はその蓋部の上面図、図3(b)はその第1の中間プレートの上面図、図3(c)はその第2の中間プレートの下面図、図3(d)はその基板の上面図である。なお、以下でいう液体検体Fsの流れ方向Aとは、流路における主流方向のことであり、例えば、図4に示すような流路5'においては、その流れ方向は、実線の矢印で示す方向のことをいうものとする。以下、液体検体Fsに、pH調整用のpH調整液Fpを混合させて分析を行なう場合を例として、本発明の第1実施形態の説明を行なう。

#### 【0023】

図1(a)、(b)及び図2(a)～(c)に示すように、本分析用チップ(単にチップともいう)1は、平板状の蓋部(蓋部材)2と、厚みの薄い第1の中間プレート(以下、単にプレートという)8と、プレート8と同様に厚みの薄い第2の中間プレート(以下、単にプレートという)9と、基板4とをそなえて構成されている。そして、これらの部材2、8、9、4は、分析時には、図1(a)に示すように、この順に上から重ねられて図示しない接合用のホルダにより一体に組み付けられる。したがって、蓋部2と基板4との間に、プレート8、9が介装されることになる。なお、ホルダには位置合わせや傷防止のための保護機構を設けることが好ましい。保護機構の例としては、例えば、分析用チップ1に係止するためにホルダに設けられる係止部や、分析用チップ1の観測する部分(後述する反応部6)がホルダと接しないようにホルダに形成されるくぼみなどが挙げられる。

#### 【0024】

図2(a)に示すように、蓋部2の孔21aから注入された液体検体Fsは、蓋部2の孔21aからプレート9の孔9cまでを連通するプレート8の孔(液体検体Fsの注入口)81aを通過して、プレート9の孔9cを流れ、その後、プレート9の孔9cから蓋部2の孔22までを連通するプレート8の孔82を通過して、蓋部2の孔22から流出するようになっており、液体検体Fsが、上記のプレート9の孔9cを流通する際に、基板4の反応部6に固定された各特定物質61に接触するようになっている。

#### 【0025】

また、蓋部2の孔21bから注入されたpH調整液Fpは、プレート8に形成された凹部

(溝部) 81bを通り、凹部81bの下流端部に形成された複数の孔(pH調整液の注入口群) 81cを通してプレート9の孔9cに流入し、そこで液体検体Fsと合流し、以降は液体検体Fsと混合して、液体検体Fsとともにプレート8の孔82を通して、プレート2の孔22から流出する。なお以下図中において、排出口22から排出される液体検体FsとpH調整液Fpとが混合した液を、Fs+Fpで表わす。

【0026】

図1(b)、図2(b)に示すように、プレート8に形成された凹部81bは、蓋部2側にだけ開口部を有するよう形成されている。また、図2(c)に示すように、プレート9に形成された孔9cは、プレート9の表裏両面に開口部を有するよう形成されており、その開口部の一方をプレート8により閉塞され、他方を基板4により閉塞されて、シート状空間に形成された流路5を形成する。つまり、孔9cは流路5を構成する。

【0027】

ここでいう「シート状空間に形成された流路」とは、通常、その断面の長辺(流路5の流れ方向に直交する断面又は厚み方向に直交する断面の辺のうち最長の辺。一般的には流路5の幅方向の距離又は流れ方向の距離を指し、本実施形態では、流路5の幅をいう) 5aの寸法Wが500 $\mu$ m~100mmの範囲であり、且つ、上記断面の短辺(流路5の高さ) 5bの寸法Hが5 $\mu$ m~2mmの範囲のものをいう。また、上記長辺5aと上記短辺5bとの寸法比率(=長辺寸法W/短辺寸法H)の範囲は、通常1.5以上、好ましくは10以上、また、通常20000以下、好ましくは100以下である。このとき、後述するように仕切壁4bによって、流路5が複数の内部流路4aに分割されている場合には、その分割されたもとの流路5、即ち、複数の内部流路4aをすべて併せた流路5の寸法が、上記の寸法比率の範囲に入っていればよい。なお、ここでは、上記長辺5aの長さWは20mmに、上記短辺5bの長さ(X1-X1断面では凹部81bの高さH<sub>3</sub>、X2-X2断面ではプレート9の厚さH<sub>2</sub>)はともに250 $\mu$ mに、それぞれ設定されている。

【0028】

以下、本分析用チップ1を構成する上記の各部材について詳細に説明する。

蓋部2、プレート8、プレート9、基板4の各材質は、樹脂、セラミックス、ガラス、金属等、その種類は特に限定されないが、検出種と特定物質61との相互作用を、蛍光、発光、発色、又は燐光等を利用して光学的に測定する場合には、チップ1を分解せずに測定を行なえることから、特に、蓋部2及びプレート8、9を透明な材料により形成することが好ましい。但し、分析用チップ1を分解して測定することが可能な場合には、蓋部2及びプレート8、9には透明度は必要とされない。また、透明な材料としては、例えば、アクリル樹脂、ポリカーボネート、ポリスチレン、ポリジメチルシロキサン、ポリオレフィン等の樹脂や、Pyrex(登録商標。ホウケイ酸ガラス)、石英ガラス等のガラスがある。なお、本実施形態では蓋部2は透明なガラス、プレート8、9は樹脂、基板4は金属で、それぞれ形成されているとして説明する。

【0029】

図3(a)に示すように、蓋部2の上流端部には、液体検体Fsを注入するための孔21aが形成され、孔21aの下流側にはpH調整液Fpを注入するための孔21bが形成され、蓋部2の下流端部には、1つの孔(排出口) 22が形成されている。

【0030】

孔21a、21bは、それぞれ図示省略のコネクタ、チューブを介して送液ポンプ(例えば、シリンジポンプ)に接続され、また、排出口22は、図示省略のコネクタ、チューブを介して廃液タンクに接続されている。そして、上記の送液ポンプを作動させることにより、液体検体Fsを孔21aから、pH調整液Fpを孔21bからそれぞれチップ1内に注入させるとともに、チップ1内から排出口22を通じて排出できるようになっている。

【0031】

図3(b)に示すように、プレート8の上流端部には、プレート8の表裏を貫通する、流路5に液体検体Fsを注入するための孔(注入口) 81aが形成され、この孔81aは、チップ1組み立て時に蓋部2の孔21aに整合して連通するように位置設定されている。

また、プレート8の孔81aの下流側には凹部81bが形成され、その上流端部がチップ1の組み立て時に蓋部2の孔21bに整合して連通するよう位置設定されている。凹部81bは、その上流端部から下流側にいくにしたがって（液体検体Fpの流通方向下流側へいくにしたがって）幅広になるように形成され、下流端部の壁面は流れ方向に直交する面として形成されている。

さらに、凹部81bの下流端部には、幅方向に一系列に並んで、流路5にpH調整液を注入するための複数の孔（一系列に形成された注入口群）81cが形成されており、孔81cはそれぞれ凹部81bからプレート8のプレート9側の面まで貫通している。

#### 【0032】

また、プレート8の下流端部には、プレート8の表裏を貫通する孔82が形成され、この孔82は、チップ1組み立て時に蓋部2の孔22に整合して連通するよう位置設定されている。

#### 【0033】

図3(c)に示すように、プレート9には孔9cが形成されている。孔9cの上流端部及び下流端部は、チップ1組み立て時にそれぞれプレート8の孔81a及び孔82に整合して連通するよう位置設定されている。なお、上述したように、チップ1が組み立てられた場合には、孔9cは流路5を構成するのでプレート9の孔9cと流路5とは同じものである。

#### 【0034】

図1(b)、図2(c)、及び、図3(d)に示すように、基板4の流れ方向中間部には、流路5に面して複数の仕切壁4bが立設されている。チップ1が組み立てられて場合には、各仕切壁4bは流路5の中間部を分割し、スリット状の内部流路（以下適宜、スリット状流路という）4aを形成する。ここで、スリット状流路4aとは仕切壁4bによって幅方向に分割された流路のことをいう。また、チップ1を組み立てた場合には、仕切壁4bは基板4及びプレート8に当接し、仕切壁4bと基板4との間、及び、仕切壁4bとプレート8との間には液体検体Fsが浸入できなくなって、流路5が複数のスリット状流路4aに分割されるのである。

#### 【0035】

なお、通常は、上記スリット状流路4aの横断面の縦横比率（縦寸法／横寸法）が0.005（例えば縦5 $\mu$ m、横1mm）～100（例えば縦10mm、横100 $\mu$ m）程度の範囲内に収まるようにスリット状流路4aが形成されることが好ましい。また、一般的には、スリット状流路4aは5mm<sup>2</sup>以下の横断面積を有するように形成されるのが好ましい。詳細には、スリット状流路4aの断面積は通常100 $\mu$ m<sup>2</sup>以上、好ましくは2000 $\mu$ m<sup>2</sup>以上、また、通常5mm<sup>2</sup>以下、好ましくは0.3mm<sup>2</sup>以下である。

#### 【0036】

このように、本分析用チップ1では、従来のシート形状の流路5に、仕切壁4bを設けることで、上記流路5を微小な内部流路4aに分割して（即ち、流路の横断面積を小さくして）液体検体Fsの周り込みを抑制できるようになっている。

#### 【0037】

さて、図1(a)、(b)及び図3(d)に示すように、基板4の流れ方向中間部には、流路5に面して反応部6が設けられる。

この反応部6は、図1(a)、(b)では簡略化して示しているが、図3(d)に示すように、所定の物質（検出種）と特異的又は非特異的に相互作用する特定物質61が、基板4の流路5側の表面にスポット状に複数点固定されてなるものである。この際、特定物質61が基板4に確実に固定されるようにするため、基板4の表面には特定物質61と結合しうる固定化膜（有機膜）が形成されていることが望ましい。

反応部6の（縦寸法×横寸法）の一般的な範囲としては、（3mm×3mm）～（20mm×20mm）であり、一般的に、この領域には、100 $\mu$ m～1mmの間隔で縦横3～200個ずつ計9～40000個の特定物質61が配置される。

#### 【0038】



なお、ここでは、各特定物質61には、相互に異なる物質に対して特異的又は非特異的に反応や結合等の相互作用をする特定物質（相互に異なる特定物質）が使用されている。

【0039】

所定物質、特定物質とは、それぞれ、例えば抗原抗体反応、相補的なDNA結合、レセプタ／リガンド相互作用、酵素／基質相互作用等の相互作用を生じさせることができる物質であり、具体例を挙げると、たんぱく質、核酸、DNA、RNA、ペプチド、ホルモン、抗原、抗体、リガンド、レセプタ、酵素、基質、低分子有機化合物、細胞、及びこれらの複合体等である。これらは、必要に応じて蛍光物質、発光物質、放射性物質等により標識されていてもよい。

【0040】

流路5を流通する液体検体Fsは、その流通過程でこれらのスポット61と接触することとなり、上記流通後に各スポット61の反応状況によって液体検体Fsについての分析を行なえる。つまり、上記複数のスポット61の内、何れかのスポット61の反応を観察できれば、この反応したスポット（特定物質）61に対応する所定の物質が液体検体Fsに含まれていることを検出できるのである。

【0041】

また、本分析用チップ1では、実際は、図3（d）に示すような反応部6（複数の特定物質61が固定された部分）は初期段階では形成されていないが、基板4に対する特定物質61の配置をわかりやすく説明するため、図3（d）では便宜的に、基板4に特定物質61が固定されている状態を示している。従って、図3（d）では、幅方向における特定物質61の位置及びスポット数が、幅方向における基板4のスリット状流路4aの位置及びスリット状流路4aの数に合致するように示している。

【0042】

スリット状流路4aを流通する液体検体Fsは、その流通過程でこれらの特定物質61と接触することとなり、上記流通後に各特定物質61の反応状況によって液体検体Fsについての分析を行なうことができる。

つまり、上記複数の特定物質61のうち何れかの特定物質61の反応を観察できれば、この反応した特定物質61に対応する所定の物質が液体検体Fsに含まれていることを検出できるのである。

【0043】

特定物質61は、隣接する特定物質61とコンタミネーションを起こさないように基準間隔をあけてチップ1に固定化されている。なお、ここで基準間隔とは、特定物質が固定された各スポットの中心間の間隔のことをいい、また、仕切壁4bのピッチは、この基準間隔と略同じに設定されている。仕切壁4bを設けても特定物質61の単位面積当たりのスポット数を従来よりも減少させることはない。逆に、仕切壁4bを設けることにより、上記のコンタミネーションを防止できるので、幅方向（流れ方向と垂直の方向）に対する特定物質61のピッチを従来よりも狭めて単位面積あたりのスポット数を増加することも可能となる。

【0044】

なお、各特定物質61に、必ずしも相互に異なる特定物質61を使用する必要はなく、同じ特定物質61を使用しても良い。何れにしても、どのような特定物質61を使用するかは、その分析の目的に応じて適宜設定されるものである。

【0045】

本発明の第1実施形態としての分析用チップ1は上述したように構成されているので、液体検体Fsを流路5に注入する注入口として孔81aを割り当て、孔21aから孔81aを通じて液体検体Fsを流路5に注入する。また、pH調整液Fpを流路5に注入する注入口として孔81cを割り当て、孔21から凹部81b、孔81cを通じてpH調整液Fpを分析用チップ1に注入する。これにより、液体検体FsとpH調整液Fpとは、孔81cと流路5とが連結された部分で合流する。

【0046】



液体検体F sとp H調整液F pとが合流すると、合流した液体検体F s及びp H調整液F pは、反応部6に流入するまでに、流通の過程で拡散現象によって均一に混合され、液体検体F sのp Hが、孔21 bから注入したp H調整液の量に応じた値に調整される。つまり、液体検体F sが流れている流路5に、孔（注入口）81 cからp H調整液F pを導入したことによって、液体検体F sのp Hを調整することができるのである。

【0047】

p Hを調整された液体検体F sは流路5を流れて反応部6に到着し、反応部6で特定物質61と接する。これにより、所望のp H値で特定物質61を用いて液体検体F sの分析を行なうことができる。

【0048】

したがって、上記の分析用チップ1によれば、液体検体F sのp Hを簡単に調整することができ、しかも、流れの中で液体検体F sとp H調整液F pとを混合しているので、p Hを調整しながら連続して分析を行なうことができる。よって、チップ1や分析装置を組み立てなおしたりする操作が不要であるので、分析に要する手間を少なくすることができる。

【0049】

また、分析用チップ1によれば、液体検体F sとp H調整液F pとが反応部6の直前で混合されるので、液体検体F sとp H調整液F pとを混合した直後（通常は混合後1分以下、好ましくは混合後1秒以下）の液体検体F sの分析を行なうことができる。したがって、液体検体F sがp H調整液F pと混合された後、経時変化を起こす場合であっても、その経時変化の影響を受けることなく精密に分析を行なうことが可能となる。

【0050】

さらに、微小に形成された流路5内で混合を行なうために、デッドボリュームが生じたりして液体検体F sが無駄となるようなことがなく、少量の液体検体F sで効率的に分析を行なうことができる。

また、孔81 cが流路5の幅方向に一系列に配置されているので、流路5において均一に混合を行なうことができる。

【0051】

さて、以上から分かるように、孔（注入口）81 a, 81 cを設けるべき流路5の上流部分は、流路5内の検出や測定を行なう部分よりも上流の部分であれば他に制限はなく、よって孔（注入口）81 a, 81 cはその上流部分の任意の位置に形成することができる。ただし、分析時には反応部6で検出・計測を行なうことが多いので、通常は、流路5の反応部6よりも上流の部分に注入口81 a, 81 cを形成する。したがって、本実施形態においては、注入口81 a, 81 cが形成される流路5の上流部分とは、流路5内の反応部6よりも上流の部分の意味することとなる。なお、あえて反応部6よりも下流で液体検体F sを検出・観察する場合には、反応部6よりも流れ方向下流側に注入口を設けてもかまわない。

【0052】

また、流路5を、仕切壁4 bによって分割して微小な（幅狭な）スリット状流路4 aとしたので、液体検体F sの周り込みによる気泡201の発生を抑制することができる。

つまり、図5（a）に示すように、従来のようなシート形状の流路では、固-気-液の三相境界線が長かったため、濡れ性の不均一により一部の液体検体F sが進行してしまい、結果として液体検体F sの周り込みによる気体の抱き込み（気泡201）が生じていたが、図5（b）に示すように、上記流路5を、独立した微小な内部流路（スリット状流路）4 aに分割したことにより、流路5中の主流と垂直な線分（流路幅）Lが小さくなるため、周り込みが発生する確率が大幅に減少する。また、流路5の横断面積が小さくなるので、各スリット状流路4 aに効率的に背圧が加わり気泡201が滞留し難くなる。

【0053】

したがって、本分析用チップ1によれば、気泡の滞留による悪影響（液体検体F sの流通の阻害、特定物質61と液体検体F sとの接触の阻害、液体F sと気泡201との熱伝達

率の差異による測定系の温度の不均一、光を用いた分析を行なう際に光路上に気泡201が滞留することによる測定の妨害等)を排除でき、分析の信頼性を向上させることができるという利点がある。さらに、気泡201の除去作業が不要となり、分析作業を効率的に行なえるといった利点がある。

【0054】

従来のシート形状の空間内に形成された流路5では、大域的な流れの不均一が生じる。すなわち、通常供給される液体流体の流量範囲では、壁面での液体流体Fsの流速が零であり、縦方向、横方向ともに中心部の流速が早く、壁面に近づくにつれて流速が遅いという流速の不均一が生じる。

しかし、本分析用チップ1では、独立した微小な内部流路(スリット状流路4a)を設けることで、例えば、スリット状流路4aの幅方向において2列に特定物質61を設ける場合には、この幅方向に並ぶ特定物質61に対して、液体検体Fsが接触する期間を均一にすることができるので、分析結果の精度を向上させることができる。

【0055】

また、ホルダによりチップ1を組み付ける場合には、チップ1に圧力がかかるが、チップ1幅方向に亘って複数形成された仕切壁4bにより、チップ1の耐圧性を向上させることができ、チップ1の形状変化、特に、厚み方向の形状変化を防止することができる。これにより、チップ1のたわみに起因する流速分布の不均一を防止できるとともに、光学的な分析においては、光路長のばらつきや光軸の変化を抑制できるので、最適な条件下で分析を行なうことができ、分析結果の精度を向上させることができるという利点がある。

【0056】

さらに、気泡201の発生に伴って生じる分析作業のやり直し頻度が減少するので、分析を効率的に行なえるようになるという利点もある。

【0057】

そして、反応部6を通過した液体検体Fs、及び、液体検体Fsに混合したpH調整液Fpは、各スリット状流路4aの下流端部から、プレート8の孔82、及び、蓋部2の排出口22を通してチップ1外へ排出される。

【0058】

なお、本実施形態では液体検体FsとpH調整液Fpとを混合させたが、注入口から流路5に注入する液体の種類や組み合わせは任意であり、本実施形態で用いたもの以外の液体を液体検体Fsと混合させてもよい。例えば、液体検体Fsにその溶媒や、液体検体Fsとは異なる濃度の所定物質の溶液などの塩濃度調整液を混合させれば、液体検体Fs中の所定物質の濃度を変えながら分析を行なうことができる。また、例えばある液体検体Fs1に別の液体検体Fs2を混合させながら分析を行なうようにしてもよい。さらに、例えば、別々の注入口から同種の液体検体Fsを注入し、その液体検体Fsの拡散混合(拡散による混合)を効率よく行なうようにしてもよい。

【0059】

また、本実施形態では液体検体Fs及びpH調整液Fpという2種類の液体を混合させるように分析用チップ1を構成したが、分析用チップ1は3種以上の液体を混合させるように構成してもよい。例えば、図6(a)～(d)に示すように、蓋部2の孔21bよりも下流に孔21cを形成し、また、プレート8の凹部81bよりも下流に、上流側端部が孔21cと整合して連通し、且つ、下流側端部に流路5に連通する孔81eを複数形成された凹部81dを形成すれば、液体検体Fs及びpH調整液Fpに加え、さらにもう1種の液体を流路5に注入し、混合を行なうことができる。なお、図6において図1～3で付した符号と同じ符号は、同様のものを表わす。

【0060】

さらに、蓋部2と基板4との間のプレートの数を増やして構成してもよい。例えば、図7、図8(a)～(e)に示すように、プレート8に代えてプレート8A及びプレート8Bを有するようにして分析用チップ1を構成することができる。以下、この実施形態について説明する。

蓋部2及び基板4は、上述した第1実施形態と同様であるので、説明を省略する。プレート8Aには、孔21aに整合して連通する孔81Aaと、上流端部が孔21bに整合して連通する凹部81Abと、凹部81Abの下流端部に形成された複数の孔81Acと、孔21cに整合して連通する孔81Adと、孔22に整合して連通した孔82Aが形成されている。

#### 【0061】

プレート8Bには、上流端部が孔81Aaに整合して連通した凹部81Baと、凹部81Baの下流端部に形成された複数の孔81Bbと、上流端部が孔81Adに整合して連通した凹部81Bcと、凹部81Bcの下流端部に形成された複数の孔81Bdと、孔82Aに整合して連通した孔82Bとが形成されている。プレート9には、上述した第1実施形態と同様に孔9cが形成されているが、孔9cの上流端部は孔81Bbに整合して連通しており、また、孔9cの下流端部は孔82Bに整合して連通している。さらに、孔81Bdは孔9cに連通するように形成されている。なお、上述した第1実施形態の分析用チップ1と同様に、この孔9cが流路5を形成する。

#### 【0062】

以上のように形成された分析用チップ1では、孔21aから注入された液体検体Fsと、孔21bから注入された液体とは、凹部81Bbで合流し、混合される。次いで、凹部81Baで混合された液体検体Fsは、孔81Bbから流路5に流入する。一方、孔21cから注入された液体は、孔81Ad、凹部81Bc、孔81Bdを介して流路5に流入し、そこで、液体検体Fsと合流する。

このように、蓋部2と基板4との間に多数のプレートを設けて、分析用チップ1を作製することも可能である。なお、図7、8中、図1～6の符号と同じ符号は、同様のものを示す。

#### 【0063】

また、注入口である孔81cは本実施形態のように幅方向に一行に形成するほか、任意の配置及び形状で形成することができる。例えば、図9(a)に示すように長穴81c'として形成したり、あるいは、図9(b)に示すように、液体検体Fsの注入口81aから凹部81b'端部までの距離を等しくし、その凹部81b'の下流端部に形成された各孔81cまでの距離が等しくなるよう円弧状に配置したりしてもよい。

なお、図9において図1～3で付した符号と同じ符号は、同様のものを表わす。

#### 【0064】

また、上記のような凹部81b、81a、81Ab、81Ba、81Bc、81b'の形成方法としては、機械加工、射出成型や圧縮成型に代表される転写技術、ドライエッチング(RIE、IE、IBE、プラズマエッチング、レーザーエッチング、レーザーアブレーション、ブラスト加工、放電加工、LIGA、電子ビームエッチング、FAB)、ウェットエッチング(化学浸食)、光造形やセラミックス敷設等の一体成型、各種物質を層状にコート、蒸着、スパッタリング、堆積して部分的に除去することにより微細構造物を形成するSurface Micro-machining、インクジェットやディスペンサーにより流路構成材料を滴下して形成する方法、光造形法などを適宜選択して用いればよい。

#### 【0065】

#### 〔2〕第2実施形態

本発明の第2実施形態としての分析用チップ1Aは、表面プラズモン共鳴(SPR: Surface Plasmon Resonance)を利用したSPRセンサに使用される分析用チップ(以下適宜、センサチップという)として構成されている。

#### 【0066】

以下、図10及び図11を参照してSPRセンサ及びセンサチップ1Aについて説明する。

図10及び図11は、本発明の第2実施形態について示すものであり、図10はSPRセンサの模式的なシステム構成図、図11はセンサチップ1Aの構成を説明するための模式

的な分解斜視図である。なお、上述の第1実施形態で説明した部材については同一の符号を付し、その説明を省略する。

【0067】

図10に示すように、SPRセンサは、分析用チップであるセンサチップ1Aと、このセンサチップ1Aに光を照射する光源100と、センサチップ1Aからの反射光を検出するための検出器〔ここではCCD(Charge Coupled Device)カメラ〕101とをそなえて構成されている。なお、図10では光源100からの入射光及びセンサチップ1Aからの反射光の光軸は流れ方向と垂直な方向で示しているが、前記入射光及び反射光の光軸の方向はこれに限定されるものではなく、例えば入射光の光軸が流れ方向と平行な方向でも良く、また、反射光の光軸がセンサチップ1Aで反射することによって入射光の光軸の方向から変わってもよい。さらに、センサチップ1の背面(基板4側)から光を照射して、センサチップ1の背面(基板4側)で反射光を観測し、分析を行なうようにしてもよいが、その場合は、基板4を入射光及び反射光が透過できる素材で形成しなくてはならない。

【0068】

センサチップ1Aは、蓋部2及びプレート8、9が透明な材料で構成されている。また、チップ1の組み立て時にプレート9に面する基板4の一方の面には、金属層41がコーティングされている。さらに、基板4の金属層41がコーティングされている側の面には、エバネッセント波を生成する光学構造として回折格子42が形成されている。センサチップ1Aのその他の構成は、第1実施形態で説明した分析用チップ1と同様の構成となっている。

なお、金属層41の材質は、表面プラズモン波を誘起しうるものであれば限定はなく、例えば、金、銀、アルミニウム等である。

【0069】

また、反応部6において特定物質61は、金属層41に直接固定されてもよく、あるいは金属層41に固定化膜(有機膜)を形成し、その有機膜に固定してもよい。ここでいう有機膜とは公知の構造を含む。また、この有機膜の機能としては、特定物質61を金属層41に安定的に固定化し、非特異吸着を抑制するものが望ましい。例えば、生体物質と結合するための官能基として、アミノ、アルデヒド、エポキシ、カルボキシル、カルボニル、ヒドラジド、ヒドロキシル、ビニル基のいずれかを含み、金属層41と結合するためにイソチオシアネート、イソニトリル、キサンテート、ジセレニド、スルフィド、セレニド、セレノール、チオール、チオカルバメート、ニトリル、ニトロ、ホスフィンのいずれかを含む直鎖高分子あるいは2重、3重結合を含む炭化水素鎖を含む。また、マトリックスとしてハイドロゲル(アガロース、アルギン酸、カラゲナン、セルロース、デキストラン、ポリアクリルアミド、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール等)を構成するものでも良い。また、LB膜、自己組織化単分子膜、脂質二重膜等の組織的構造を用いたものでも良い。

【0070】

回折格子42は、基板4の表面に凹凸を形成しておき、その上にスパッタリング等により金属を薄く積層して上記金属層41を形成することで上記金属層41の表面に具現できる。

また、基板4に回折格子42を設けるべく形成される凹凸は、例えば、基板4を切削して形成され、切削方法としては機械的に行なうものでも良いし、エッチングの技術等により化学的に行なうものでもよい。

【0071】

さらに、基板4を樹脂材により構成する場合には、樹脂材が完全に固化しないうちに、例えばフォトリソグラフィ等により凹凸を形成したスタンプを基板4に押圧して凹凸を形成することもできるし、射出成形によりスタンプから凹凸形状を転写しても良い。

【0072】

本発明の第2実施形態としての分析用チップ(センサチップ)1Aは、上述したように構



成されているので、第1実施形態と同様に、孔21aから液体検体F<sub>s</sub>を注入し、孔21bからpH調整液F<sub>p</sub>を注入して、液体検体F<sub>s</sub>とpH調整液F<sub>p</sub>とを混合することにより、pHを精密に制御しながら表面プラズモン共鳴を利用して分析を行なうことができる。

#### 【0073】

上記光源100から透明な蓋部2及びプレート8、9を介して基板4に光が照射されると、この光によって金属層41の表面に発生した表面プラズモン波が、回折格子42により金属層41に誘発されたエバネッセント波と共鳴して、金属層41に照射された光のうち、特定の入射角又は特定の波長の光成分のエネルギーが金属層41に吸収される。したがって、金属層41からの反射光は、特定の入射角又は特定の波長の光成分のエネルギーが弱くなる。

#### 【0074】

金属層41上で発生するエバネッセント波の角度及び波長は、金属層41もしくは金属層41上に形成された有機膜に固定された特定物質61により捕捉された検出種の量に応じて変化し、これに応じて、吸収される反射光の角度及び波長が変化する。

#### 【0075】

したがって、反応部6の各特定物質61からの反射光の光強度をそれぞれCCDカメラ101により監視して、かかる角度及び波長の変化を検出することで液体検体中の検出種の濃度をリアルタイムで測定できる。

#### 【0076】

以上のような、本発明の第2実施形態としての分析用チップ（センサチップ）1Aによれば、上述した本発明の第1実施形態と同様、流路5の上流部分でF<sub>s</sub>とF<sub>p</sub>とをすばやく正確に混合することができるので、正確且つ効率的に分析を行なうことができる。また、チップ1Aを用いた表面プラズモン共鳴では、第1実施形態と同様の効果を得ることができる。

#### 【0077】

また、SPRセンサに使用される分析用チップ1Aの大きな特徴として、反応部6（複数の特定物質61）における相互作用の状態を光学的に且つオンラインで検出することが挙げられる。

また、このようなSPRを利用した分析では、マイクロチャンネルチップに同一の液体検体を流通させて分析を行なうだけでなく、複数の液体検体を、バッファを挟んで連続的に流通させて、これらの液体検体の所定物質と特定物質との一連の結合－解離を分析することも可能である。

#### 【0078】

また、本実施形態では検出器101としてCCDカメラを用いたが、検出器101はこれに限定されるものではなく、フォトダイオード、光電子増倍管、感光紙など、任意のものを使用することができる。

#### 【0079】

#### 〔3〕第3実施形態

図12～図14は本発明の第3実施形態としての分析用チップ1Bの構成を示すもので、図12(a)はその模式的な組立斜視図、図12(b)は分析用チップ1Bの模式的な分解斜視図、図13は図12(a)のY-Y断面図、図14(a)は分析用チップ1Bの蓋部の上面図、図14(b)は分析用チップ1Bの中間プレートの上面図、図14(c)は分析用チップ1Bの基体の上面図である。なお、上述の第1実施形態で説明した部材については同一の符号を付し、その説明を省略する。

#### 【0080】

図12(a)、(b)に示すように、本分析用チップ（単にチップともいう）1Bは、蓋部2、中間プレート（以下、単にプレートという）10、基板4をそなえて構成されている。

本分析用チップ1Bでは、第1実施形態の分析用チップ1に対し、プレート8、9の代わ

りに、シート状空間を形成するプレート10をそなえている他は第1実施形態と同様に構成されている。従って、以下、特にプレート10について詳細に説明する。

なお、蓋部2の注入口21a、21b及び排出口22には、それぞれパイプ(図示略)が挿入されており、外部の送液ポンプや廃液タンクへつながるチューブとの接続を容易に行なえるようになっている。

#### 【0081】

図12(a)、(b)に示すように、プレート10には、プレート10の表裏面に開口部を有する孔10dが形成されている。図13に示すように、孔10dは、チップ1Bを組み立てたときにはその開口部の一方を蓋部2により閉塞され、他方を基板4により閉塞されて、シート状の流路5を形成する。つまり、孔10dが流路5を構成する。さらに、孔10dは、その上流側端部に孔21aが整合して連通し、その下流側端部に孔22が整合して連通するよう構成されている。

#### 【0082】

そして、本実施形態の特徴として、図14(a)～(c)に示すように、孔10dの上流、即ち流路5の上流に、孔10dの他の部分よりも流路5の幅(即ち、孔10dの幅方向の距離)が小さく形成されることにより、流れ方向に直交する断面の断面積が流路5以下より小さい狭流路部(上流部分)10eが設けられている。この狭流路部10eに、注入口である孔21a、21bが連通するように設定されている。

#### 【0083】

本発明の第3実施形態としての分析用チップ1Bは、上述したように構成されているので、蓋部2の注入口21aに注入された液体検体Fsは、狭流路部10eに流入する。一方、孔21bから注入されたpH調整液Fpは、狭流路部10eで液体検体Fsと合流し、この狭流路部10eで液体検体FsとpH調整液Fpとが混合する。pH調整液Fpと混合した液体検体Fsは、流路5を流通し、反応部6を通過して、孔22から排出される。

#### 【0084】

この本実施形態の分析用チップ1Bによれば、第1実施形態の分析用チップ1と同様の効果を得ることができる。

また、分析用チップ1Bを用いた場合には、液体検体FsとpH調整液Fpとが混合する際、第1実施形態と同様に拡散現象が起こるが、狭流路部10eは幅が狭く形成されているので、狭流路部10eは流れ方向に直交する断面の断面積も小さくなり、より速やかに、即ち、より短い滞留時間内で、拡散が完了する。

このため、液体検体FsとpH調整液Fpとの混合に要する時間が短くなるので、効率的に分析を行なうことができる。

#### 【0085】

なお、本実施形態では液体検体FsとpH調整液Fpとを混合させたが、これ以外の組み合わせで液体検体Fsと別の液体とを混合させてもよい。

また、本実施形態では液体検体Fs及びpH調整液Fpという2種類の液体を混合させるように分析用チップ1Bを構成したが、第1実施形態と同様、分析用チップ1Bの注入口の数(図15(a)の例では、孔21a、21b、21cの3個)を増やして更に多種の液体を混合させるように構成したりしてもよい。

#### 【0086】

また、本実施形態では狭流路部10eの幅を狭くして狭流路部10eを形成したが、図15(b)に示すように、流路5の高さを低くすることによって狭流路部10eを形成してもよい。なお、図15中、図1～14において使用した符号と同じ符号は、同様のものを表わす。

#### 【0087】

また、本実施形態では流路5の上流部分全体を通じて流路5の幅を小さくし狭流路部10eを形成したが、例えば図16(a)～(c)に示すように、下流側の注入口(本実施形態では、孔21b)の流れ方向下流の一部のみの幅を小さくするなどして、流路5の反応

部6よりも上流の上流部分の一部を狭流路部10eとして狭く形成した場合でも、本実施形態と同様の効果を得ることができる。

なお、図16中、図1～15において使用した符号と同じ符号は、同様のものを表わす。

#### 【0088】

本実施形態のように、流路5の上部（蓋部2側）から複数種の液体（ここでは、液体検体Fs及びpH調整液Fp）が流通させられる場合、拡散が生じなければ、図24（a）に示すように、通常のレイノルズ数（ $Re < 100$ ）においては、高さ方向に層状に液体が流通する。しかし、シート状空間に形成された流路5では、流路5の高さが小さいため、図24（b）に示すように、濃度分布が生じている方向である流路5の高さ方向への拡散が非常に短時間で生じることが可能である。また、拡散は滞留時間と関連し、完全混合していない範囲においては滞留時間が長いほうが拡散量が多いので、例えば、流路5を流れる液体の流量が一定であれば、幅が大きい流路ほど液体の線速が遅くなることを利用して、流路5の高さを変えずに幅を広げ流路5を流れる液体（液体検体Fs及びpH調整液Fp）の線速を低下させることで、更に拡散が効率的となる。また、例えば液体の流量を小さくすることによっても、更に拡散が効率的となる。したがって、図25（a）、（b）に示すように、狭流路部10eでは流路5の幅を大きくし、且つ、高さを小さくすることが効果的である。ただしこの場合でも、上述したように流路5の上流部分には流れ方向に直交する断面の断面積を流路5より小さくした狭流路部10eを形成し、幅方向の濃度分布を一定にしてから、流路5の幅を大きくすることが望ましい。なお、図24（a）、（b）、図25（a）、（b）において、図1～15において使用した符号と同じ符号は、同様のものを表わす。

#### 【0089】

なお、拡散は互いに混合させる液体（ここでは、液体検体Fs及びpH調整液Fp）の溶媒、溶質の分子量、拡散係数、粘度、動粘度、密度、流量、線速度、温度、あるいは流路の形状及び寸法に依存する。また、これらにより導かれる無次元量レイノルズ数 $Re$ 、及び、ペクレ数 $Pe$ が一般的な拡散混合の指標となる。

#### 【0090】

##### 〔4〕第4実施形態

図17～図19は本発明の第4実施形態としての分析用チップ1Cの構成を示すもので、図17（a）はその模式的な組立斜視図、図17（b）はその模式的な分解斜視図、図18は図17（a）のY-Y断面図、図19（a）は分析用チップ1Cの蓋部の上面図、図19（b）は分析用チップ1Cの第1のプレートの上面図、図19（c）は分析用チップ1Cの第2のプレートの上面図、図19（d）は分析用チップ1Cの基板の上面図である。なお、上述の第1～3実施形態で説明した部材については同一の符号を付し、その説明を省略する。

#### 【0091】

本発明の第4実施形態としての分析用チップ1Cは、図17（a）、（b）に示すように、第1実施形態としての分析用チップ1のプレート8、9の代わりに、第1の中間プレート（以下、単にプレートという）16及び第2の中間プレート（以下、単にプレートという）17を備えたほかは第1実施形態の分析用チップ1と同様の構成となっている。したがって、以下、プレート16、17について説明する。

#### 【0092】

図19（a）～（d）に示すように、プレート16の下流部には、分析用チップ1Cを組み立てたときに蓋部2の孔22と整合して連通する孔16dが形成され、プレート17の下流部には、チップ1Cを組み立てたときに下流端が孔16dに整合して連通するよう形成された孔17cが形成されている。

孔17cは、図18に示すように、分析用チップ1Cを組み立てたときには、その開口部的一方をプレート16により閉塞され、他方を基板4により閉塞されて、シート状の流路5の一部（下流部分）を形成する。さらに、孔17cの他方の開口部は、分析用チップ1Cを組み立てたときに反応部6と連通するよう形成されている。

## 【0093】

また、孔17cには、その上流に、孔17cの幅（即ち、孔17cの幅方向の距離）が小さく形成された狭流路部17dが形成されている。

## 【0094】

プレート16には、流路5の幅方向一方〔図19（b）中では、上方〕に向かってU字型に屈折したU字型孔16b及びU字型孔16cが形成されている〔図19（b）〕。また、プレート17には、流路5の幅方向他方（図19（c）中では、下方）に向かってU字型に屈折したU字型孔17a及びU字型孔17bが形成されている。

そして、U字型孔16b、16c、17a、17bは、分析用チップ1Cを組み立てたときに、U字型孔16cの下流端が狭流路部17dの上流端（孔17cの上流端でもある）に整合して連通し、U字型孔17bの下流端がU字型孔16cの上流端に整合して連通し、U字型孔16bの下流端がU字型孔17bの上流端に整合して連通し、U字型孔17aの下流端がU字型孔16bの上流端に整合して連通するよう設定されている。

## 【0095】

プレート16の上流端部には孔16aが形成されていて、孔16aは下流側の部分が流路5の幅方向一方に向かってU字型に屈折し、上流側の部分が流れ方向に平行に延在する形状に形成されている。孔16aは、分析用チップ1Cを組み立てたときに孔16aの下流端がU字型孔17aの上流端に整合して連通し、また、孔16aの上流端が孔21aと整合して連通し、さらに、孔16aの上流側の部分が孔21bと整合して連通するよう設定されている。

## 【0096】

そして、後述するように、孔16a、U字型孔17a、16b、17b、16c、及び孔17cが本実施形態のチップ1Cの流路5を構成し、孔16a及びU字型孔17a、16b、17b、16cが、本実施形態のチップ1Cのカオティックミキサー（chaotic mixer）18を構成する。

なお、孔16a及びU字型孔17a、16b、17b、16cは、それぞれ幅が狭流路部17dと同じに形成されている。

## 【0097】

本発明の第4実施形態としての分析用チップ1Cは以上のように構成されているので、注入口である孔21aから液体検体Fsを注入すると、液体検体Fsは孔16a、U字型孔17a、U字型孔16b、U字型孔17b、U字型孔16c、及び孔17cを流通し、孔16dを経て排出口である孔22から排出される。

したがって、孔16a、U字型孔17a、16b、17b、16c、及び孔17cが本実施形態の流路5を構成し、孔16a及びU字型孔17a、16b、17b、16cが、流路5の上流部分として、本実施形態のチップ1Cのカオティックミキサー18を構成する。

## 【0098】

また、pH調整液Fpが注入口である孔21bから注入されると、pH調整液Fpは孔16a内部の孔21aよりも下流側で流路5に注入されて、そこで液体検体Fsと合流する。

## 【0099】

液体検体Fs及びpH調整液Fpが合流すると、液体検体Fs及びpH調整液Fpはともにカオティックミキサー18を構成する孔16a、U字型孔17a、16b、17b、16cを流通する。図19（b）、（c）に示すように、孔16a、及びU字型孔17a、16b、17b、16cはそれぞれ上流から下流に流れるにしたがって幅方向に反対の方向へ交互に屈折するよう構成されており、さらに、図18に示すように、孔16a、及びU字型孔17a、16b、17b、16cは、それぞれ上流から下流に流れるにしたがって厚み方向上下に交互に屈折するよう構成されている。つまり、液体検体Fs及びpH調整液Fpはカオティックミキサー18を構成する孔16a、及びU字型孔17a、16b、17b、16cを流通する際に、流れ方向に向かって上下左右に屈折して形成された狭



流路部を流れることになり、流れの障害となる上記の屈折によって液体検体F s及びp H調整液F pの界面が流れと共に増加することにより、拡散混合が著しく効率的となる。

【0100】

しかも、図19(b)、(c)にあるように、カオティックミキサー18を構成する孔16a、U字型孔17a、16b、17b、16c、及び孔17cの狭流路部17dは流路幅を狭く構成されている。これによって、第3実施形態で説明したのと同様に、流路幅が大きく形成されている場合と比べ、拡散が速やかに完了するので、効率的に混合が進む。

【0101】

このようにして、孔16aで合流した液体検体F s及びp H調整液F pは、効果的に混合された後、反応部6で検出・測定され、孔16dを通じて孔22から排出される。

【0102】

以上のように、本実施形態の分析用チップ1Cを用いればカオティックミキサーを用いたことにより、効率的に混合を行なうことができるほか、第1実施形態と同様の効果を得ることができる。

なお、本実施形態では液体検体F sとp H調整液F pとを混合させたが、これ以外の組み合わせで液体検体F sと別の液体とを混合させてもよい。

また、本実施形態では液体検体F s及びp H調整液F pという2種類の液体を混合させるように分析用チップ1Cを構成したが、蓋部2に孔16aに連通する孔21cを更に形成して(図20の例では、21a、21b、21cの3個)、分析用チップ1Cが3種以上の液体を混合させるように構成してもよい。なお、図20中、図1～19で使用した符号と同じ符号は、同様のものを表わす。

【0103】

また、第1実施形態と同様に、注入口である孔21a、21bの数や形状は任意であり、分析方法に応じて適宜選択すればよい。

また、本実施形態では流路5の上流部分である孔16a、及びU字型孔17a、16b、17b、16cの配置を立体的に変えることでカオティックミキサーを構成したが、カオティックミキサーは上述した構成に限定されるものではない。

【0104】

カオティックミキサーを流通する過程で、カオティックミキサー内の隣接する液体粒子が、カオティックミキサー内の流通流路が適当に複雑であるために、流通開始から一定時間流通後、互いの隣接の度合い予想できない状態に位置を異にしてしまうことを、カオティックミキシングという。本実施形態は、このカオティックミキシングを利用したもので、図18、図19(b)、(c)に示したような直線状でない流路(カオティックミキサー18)に、適当なレイノルズ数を有する液体を流通させることで、一定時間後にカオティックミキサー18内の液体が混合されるのである。よって、本実施形態に適用できるカオティックミキサーは本実施形態で説明したものに限られず、公知のカオティックミキサーを適宜選択して用いることができる。

【0105】

〔5〕第5実施形態

図21は本発明の第5実施形態を説明する図である。

本発明の第5実施形態としての分析装置は、図21に示すように、第1、第3、第4実施形態で説明した分析用チップ1、1B、1C(以下、分析用チップとしては符号1を使用する)と、分析用チップ1を流通する液体検体F sの分析を行なう分析部501と、分析用チップ1の上流に備えられ、分析用チップ1に液体検体F sを導入するに先立ち物理的及び／又は化学的な作用によって液体検体F sを分離する分離装置502と、分析用チップ1から排出された液体検体F sを分析する後分析装置503とを備えている。なお、上述の各実施形態で説明した分析用チップ1については、その説明を省略する。

【0106】

分析部501の種類は任意であるが、通常、分析部501は表面プラズモン共鳴、化学発光、生物発光、電気化学発光、蛍光、及びR I(放射性同位体分析)のいずれかの分析手

法により分析を行なうものが好ましい。なお、分析部501は上記手法のうちの1種の手法により分析を行なうものでも良く、2種以上の手法を組み合わせる分析を行なうものでもよい。

#### 【0107】

分析部501が表面プラズモン共鳴を用いて分析を行なう場合には、その分析部501の具体的な装置構成は、上述した第2実施形態と同様に構成することができる。また特に、表面プラズモン共鳴を用いた分析部501では、分析用チップ1の背面から光を照射して、分析を行なうことも可能である。即ち、分析用チップ1の基板4側から分析用チップ1の流路5内に形成された反応部6に光を照射して、その反応部6からの反射光を分析用チップ1の基板4側で観測し、分析を行なうのである。ただしその場合には、照射された光が分析用チップ1の反応部6にまで届く必要があることから、当然基板4は照射される入射光が透過できるものでなくてはならない。したがって、分析用チップ1の背面から光を照射して分析を行なう場合には、通常、基板4は入射光と同じ波長を有する光を透過する素材で作製することになる。

#### 【0108】

分析部501が蛍光により分析を行なうものである場合には、分析用チップ1の蓋部2を透明に形成し、蓋部2側から励起光を照射して蓋部2側から蛍光の検出を行なう。ただし、表面プラズモン共鳴により分析を行なう場合と同様に、分析用チップ1の背面側、即ち、基板4側から励起光を照射し、基板4側で蛍光を検出し、分析を行なうこともできる。なお、この場合には基板4を透明に形成することが必要となる。また、分析用チップ1の蓋部2側から励起光を照射して基板4側で蛍光を検出したり、逆に基板4側から励起光を照射して基板4側で蛍光を検出することも可能である。なお、化学発光や生物発光においては、通常励起光の照射は不要である。

#### 【0109】

分析部501が化学発光や生物発光により分析を行なうものである場合には、分析用チップの透明部（透明に形成した部分）を通じて、任意の方向から化学発光の検出を行なうことができる。よって、例えば分析用チップ1の蓋部2を透明に形成した場合には蓋部2側から光の照射・検出をすることができるし、基板4を透明に形成した場合には基板4側から光の照射・検出をすることができる。

#### 【0110】

分析部501が電気化学発光により分析を行なうものである場合には、化学発光により分析を行なう場合とほぼ同様であるが、電気化学発光の場合には、基板4に電極を設けることに注意すべきである。したがって、電極が不透明の素材で形成されている場合には、たとえ基板4を透明な素材で形成していても基板4側から電気化学発光の検出を行なうことは難しい。ただし、電極が透明な素材（例えばITO）で形成されている場合や、不透明な素材で形成されているが極薄い薄膜状に形成されていることによって光が透過できる場合には、基板4側から光の照射、検出を行なうことも可能である。

#### 【0111】

また、本実施形態の分析装置では、分析用チップ1の上流に、分析用チップ1に液体検体Fs、及び、液体検体Fsと混合する他の液体を導入するに先立ち、物理的及び／又は化学的な作用によって、液体検体Fs及び液体検体Fsと混合する他の液体の少なくともいずれかを分離する分離装置502が備えられている。

#### 【0112】

分離装置502の種類は任意であるが、通常、試料の吸着性や分配係数に応じて分離を行う液体クロマトグラフィーやHPLC（high performance liquid chromatography）、試料の電気陰性度に応じて分離を行うキャピラリー電気泳動やマイクロチップ電気泳動、マイクロチャネル電気泳動或いはフローインジェクションを用いた分析方法などが好適であるが、もちろんこの他の装置を分離装置502として分析装置に取り付けても良く、また、上記の装置を組み合わせてもよい。

#### 【0113】

マイクロチャネルは何らかのチップ表面に形成された試料が流れる溝のことであり、マイクロチャネル電気泳動は、この溝の一部にHPLCのカラム充填材に相当するものを詰めたり、溝表面に官能基を備えさせたりすることで、分離が可能となるものである。

また、フローインジェクションは試料が流れている状態で様々な反応を起こさせる手法であるが、例えば錯形成反応と溶媒抽出とを行い、試料中の検出種以外の物質を除去する等の処理をして、分離を行うことができる。

なお、もちろん上記以外の装置を分離装置502として分析装置に取り付けても良い。

#### 【0114】

また、本実施形態の分析装置は、分析用チップ1から排出された液体検体Fsを分析する後分析装置503を備えている。後分析装置503の種類について特に制限はなく、任意の分析装置を後分析装置503として用いることができるが、具体例としては、MS（質量分析装置）、プロテインシーケンサ、DNAシーケンサ、SEM、SPM、STM、AFMなどが挙げられる。

後分析装置503は液体検体Fsを分析可能な状態にするような前処理機構を含めてもよい。また、上記の装置を組み合わせて用いてもよい。

#### 【0115】

本発明の第5実施形態としての分析装置は以上のように構成されているので分析時には、分離装置502、分析用チップ1、後分析装置503の順に液体検体Fsが流され、分析が行なわれる。

#### 【0116】

また、分析部501で分析を行なう際に、分析用チップ1を用いて分析を行なうため、液体検体Fsに別の液体を容易に且つ効率的に混合することができ、分析を効率よく且つ精度良く行なうことができるほか、第1実施形態と同様の効果を得ることが可能である。

#### 【0117】

さらに、本実施形態の分析装置は、後分析装置503を備えているので、一度の分析操作によって多くのデータを得ることができ、液体検体Fsをより多面的に分析することが可能となる。

#### 【0118】

なお、本実施形態では分析用チップ1として第1実施形態で説明したものをを用いたが、分析用チップ1はこれと同一のものでなくても良く、他の構成を有する分析チップ1を用いてもよいことは言うまでもない。

#### 【0119】

#### 〔6〕その他

以上、本発明の第1～第5実施形態について説明したが、本発明はこれらの実施形態に限定されるものではなく、本発明の趣旨を逸脱しない範囲で種々変形して実施することができる。

#### 【0120】

例えば、第1～第5実施形態の構成をそれぞれ組み合わせて実施してもよい。

具体例としては、第3実施形態に第2実施形態を併合しても良い。即ち、第3実施形態の分析用チップ1Bにかかる蓋部2及びプレート10を透明な材料により構成し、また、基板4の特定物質61が固定される面に回折格子42及び金属層41を形成してセンサチップとして構成する。これにより、蓋部2及びプレート10を介して基板4に光を照射し、反応部6の各特定物質61からの反射光の光強度を検出することにより、第2実施形態の効果と同様に、液体検体中の検出種の濃度をリアルタイムで測定することが可能となる。

#### 【0121】

また、上記の各実施形態では、液体検体Fsを輸送するための手段を、送液ポンプにより構成したが、液体検体Fsの輸送手段はこれに限定されず、送液ポンプ以外の圧力式のものも勿論、流路5に電場を加えることにより液体検体Fsの流れ（電気浸透流れ）を生起させるようにしても良いし、さらに、これらに毛細管現象による輸送を組み合わせても良い。

## 【0122】

また、図22に示すように、特定物質を固定する基板以外の部分（上述した各実施形態では、蓋部2やプレート8～10、16、17）を、光造形法などの手法によって一体の構造として構成してもよい。なお、図22中、図1～21で用いられた符号と同じ符号は、同様のものを示す。

また、スクリーン印刷やインクジェットなどの印刷、又はコーティングなどにより、上記各実施形態におけるプレート8～10、16、17を、プレート基板4上に直接形成してもよい。

## 【0123】

また、図23に示すように、注入口及び排出口の一部又は全部を分析用チップ1の側面に形成してもよい。図23では、液体検体Fsを注入する注入口21a、及び、排出口22を分析用チップ1の側面に設け、pH調整液Fpを注入する注入口21bを分析用チップ1の蓋部2上面に設けている。これにより、例えば表面プラズモン共鳴センサにより分析を行なう場合には、分析用チップ上部の光の通過部分に液体検体Fsを供給又は排出するためのコネクタを設ける必要がなくなるため、反応部及び検出面を広くすることができ、また、光源や検出器などの光学系を分析用チップに近づけることができるなどの利点を得ることができる。なお、図23中、図1～22で用いられた符号と同じ符号は、同様のものを示す。

## 【0124】

なお、上記の説明で用いた分析用チップ1では、いずれも反応部6では流路5を内部流路（スリット状流路）4aに分割する構成を示したが、本発明の実施の際には、複数のスリット状流路を有さない流路を備えて構成してもよい。

## 【0125】

また、上述した実施形態では液体検体FsにpH調整液Fpを混合する例を示して説明したが、液体検体Fsに混合する液体は任意であり、pH調整液の代わりに、例えば、塩濃度調整液、濃度調整液、反応促進液、反応抑制液、反応停止液、液体検体Fsと反応する液体などを用いてもよい。

## 【0126】

## 【発明の効果】

以上詳述したように、本発明の分析用チップ及び分析方法によれば、分析用チップを簡素でコンパクトな構成にしながら、簡単にすばやく混合を行なうことができる。これにより、上記のように混合を伴う分析であっても、液体検体の量を少量に抑えながら、効率よく且つ精密に分析を行なうことができる。

## 【0127】

## 【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の第1実施形態としての分析用チップを示す図であり、(a)はその模式的な組立斜視図、(b)はその模式的な分解斜視図である。

【図2】本発明の第1実施形態としての分析用チップを示す模式的な図であり、(a)は図1(a)のY-Y断面図、(b)は図1(a)のX1-X1断面図、(c)は図1(a)のX2-X2断面図である。

【図3】本発明の第1実施形態としての分析用チップを示す模式的な図であり、(a)はその蓋部の上面図、(b)はそのプレートの上面図、(c)はそのプレートの上面図、(d)はその基板の上面図である。

【図4】液体検体の流れ方向の定義を説明するための模式図である。

【図5】(a)は従来のシート形状の空間内に形成された流路を模式的に示す平面図、(b)は本発明の第1実施形態としての分析用チップのスリット状流路を模式的に示す平面図である。

【図6】本発明の第1実施形態としての分析用チップの第1変形例を説明するための模式的な図であり、(a)はその蓋部の上面図、(b)はそのプレートの上面図、(c)はそのプレートの上面図、(d)はその基板の上面図である。



【図7】本発明の第1実施形態の第2変形例としての分析用チップを示す模式的な分解斜視図である。

【図8】本発明の第1実施形態の第2変形例としての分析用チップを示す模式的な図であり、(a)はその蓋部の上面図、(b)はそのプレートの上面図、(c)はそのプレートの上面図、(d)はそのプレートの上面図、(e)はその基板の上面図である。

【図9】(a)は本発明の第1実施形態の第3変形例としての分析用チップのプレートの模式的な上面図、(b)は本発明の第1実施形態の第4変形例としての分析用チップのプレートの模式的な上面図である。

【図10】本発明の第2実施形態にかかるSPRセンサの全体構成を示す模式的な斜視図である。

【図11】本発明の第2実施形態としての分析用チップの構成を示す分解斜視図である。

【図12】本発明の第3実施形態としての分析用チップについて示す図であり、(a)はその模式的な組立斜視図、(b)はその模式的な分解斜視図である。

【図13】本発明の第3実施形態としての分析用チップを示す、図12(a)のY-Y断面図である。

【図14】本発明の第3実施形態としての分析用チップを示す模式的な図であり、(a)はその蓋部の上面図、(b)はそのプレートの上面図、(c)はその基板の上面図である。

【図15】(a)は本発明の第3実施形態の第1変形例としての分析用チップの模式的な断面図、(b)は本発明の第3実施形態の第2変形例としての分析用チップの模式的な断面図である。

【図16】本発明の第3実施形態の第3変形例としての分析用チップを示す模式的な図であり、(a)はその蓋部の上面図、(b)はそのプレートの上面図、(c)はその基板の上面図である。

【図17】本発明の第4実施形態としての分析用チップについて示す図であり、(a)はその模式的な組立斜視図、(b)はその模式的な分解斜視図である。

【図18】本発明の第4実施形態としての分析用チップを示す、図17(a)のY-Y断面の模式的な断面図である。

【図19】本発明の第4実施形態としての分析用チップを示す図であり、(a)はその蓋部の上面図、(b)はそのプレートの上面図、(c)はそのプレート(中間プレート)の上面図、(d)はその基板の上面図である。

【図20】本発明の第4実施形態の変形例としての分析用チップの模式的な断面図である。

【図21】本発明の第5実施形態としての分析装置を説明する図である。

【図22】本発明の別の実施形態を示す図である。

【図23】本発明の別の実施形態を示す図である。

【図24】(a)、(b)はそれぞれ、流路における液体の拡散を説明する断面図である。

【図25】本発明の第3実施形態の変形例を説明する図であり、(a)は流路における拡散を説明する断面図、(b)は流路を蓋部側からみた断面図である。

【符号の説明】

1, 1A, 1B, 1C 分析用チップ

2 蓋部

4 基板

4a スリット状流路

4b 仕切壁

5, 5' 流路

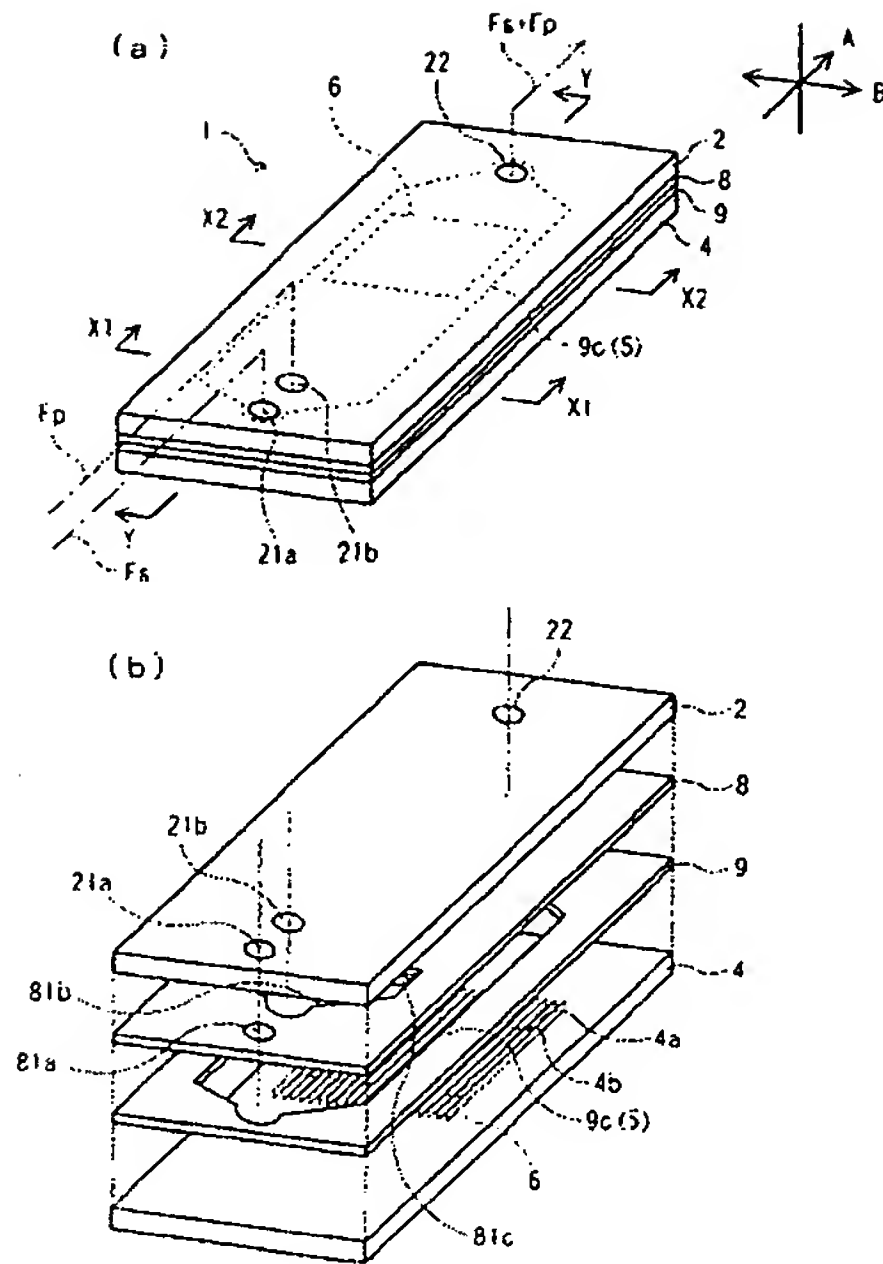
5a 流路5の横断面の長辺

5b 流路5の横断面の短辺

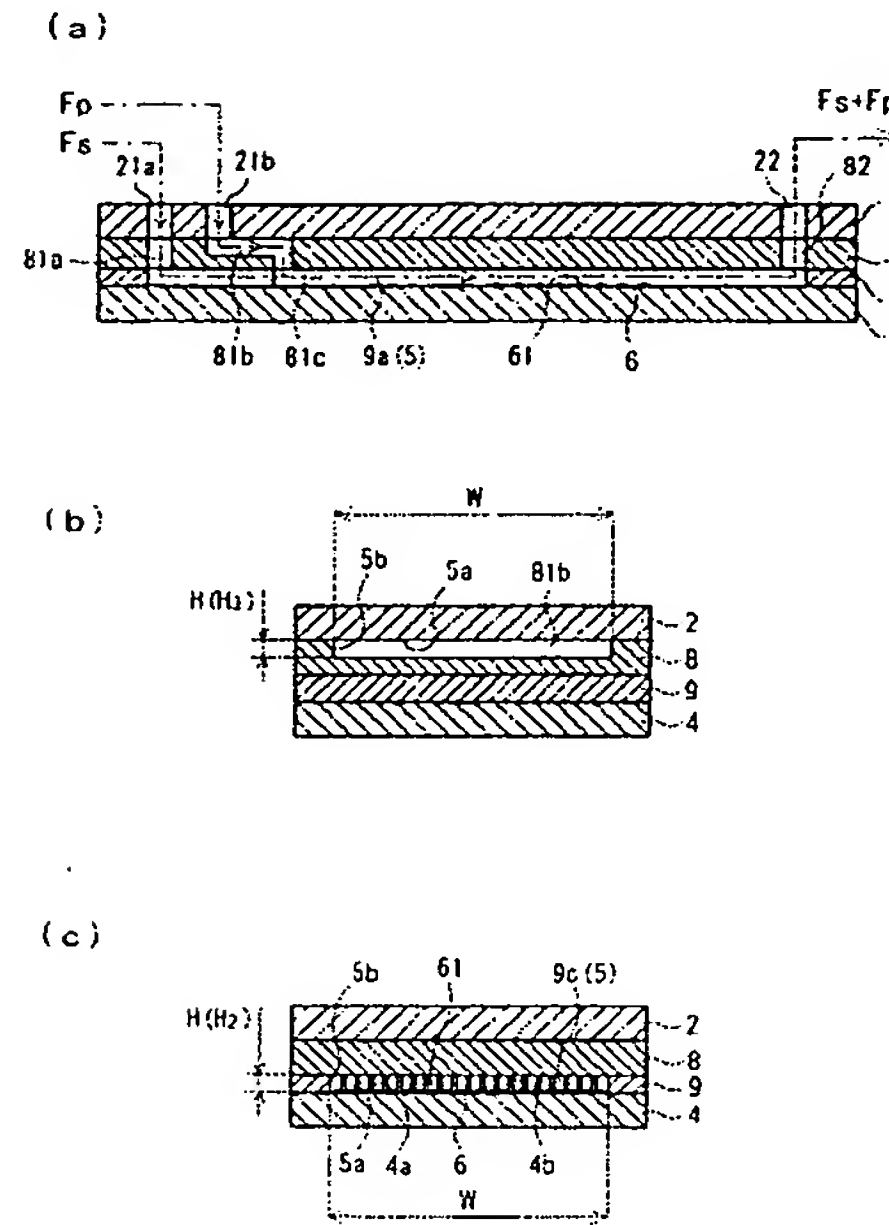
6 反応部

8, 8A, 8B, 9, 10, 16, 17 プレート  
9c 孔  
10d 孔  
10e 狭流路部  
16a, 16b, 16c U字型孔  
16d 孔  
17a, 17b U字型孔  
17c 孔  
17d 狭流路部  
18 カオティックミキサー  
21a, 21b, 21c, 22 孔  
41 金属層  
42 回折格子  
61 特定物質  
81a, 81c, 81e 孔  
81b, 81b', 81d 凹部  
81c' 長穴  
81Aa, 81Ac, 81Ad, 81Bb, 81Bd 孔  
81Ab, 81Ba, 81Bc 凹部  
82, 82A, 82B 孔  
100 光源  
101 検出器  
201 気泡  
501 分析部  
502 分離装置  
503 後分析装置  
Fs 液体検体  
Fp pH調整液  
W 流路の幅  
H 流路の高さ

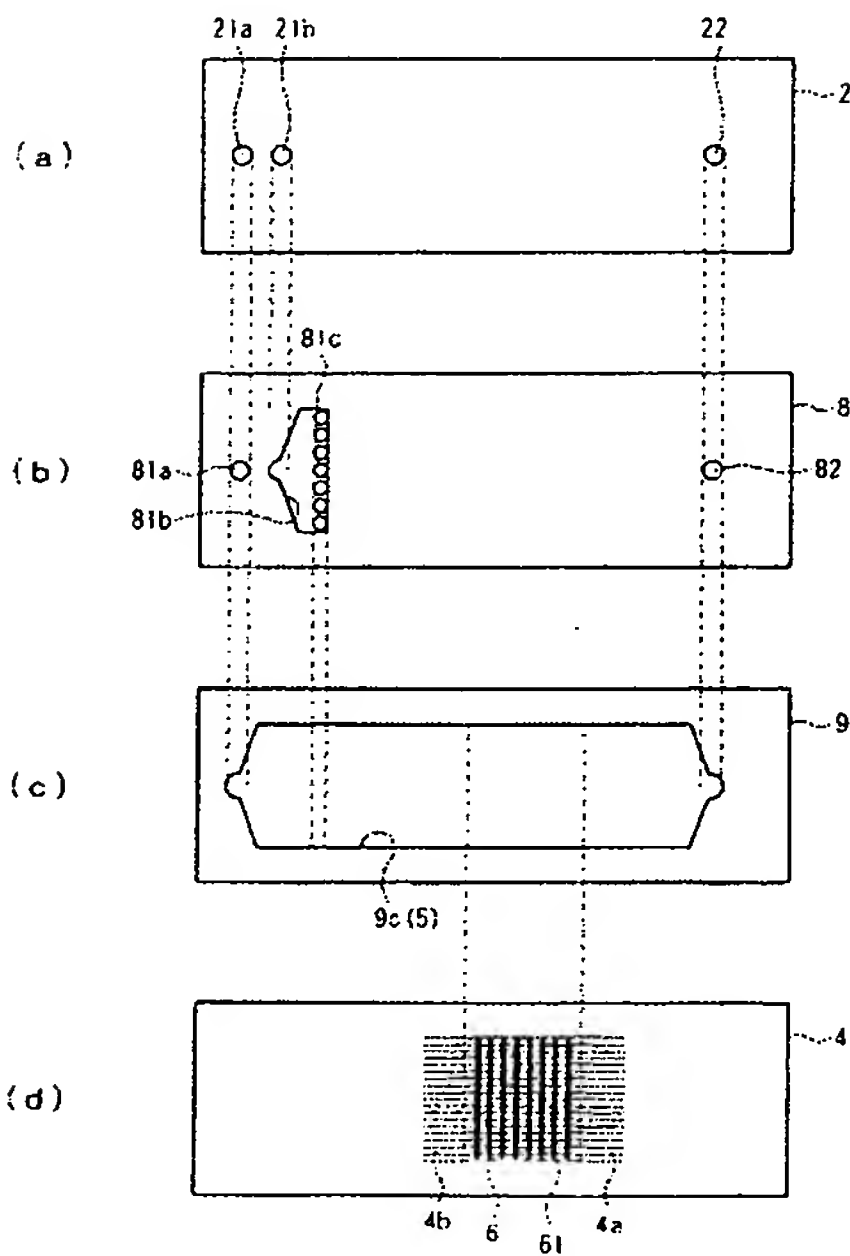
【図1】



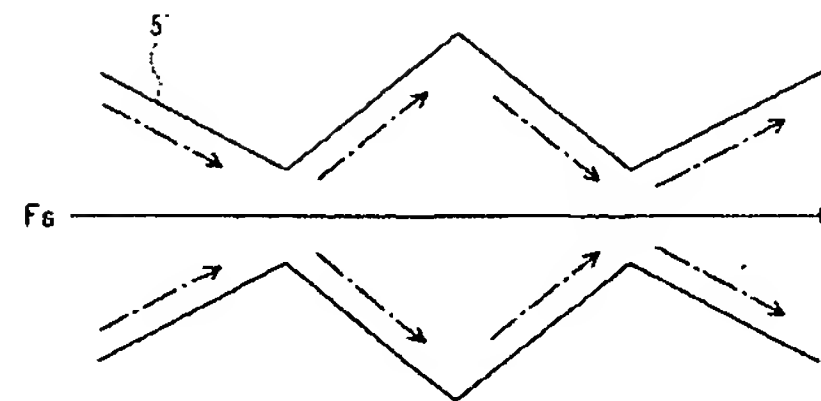
【図2】



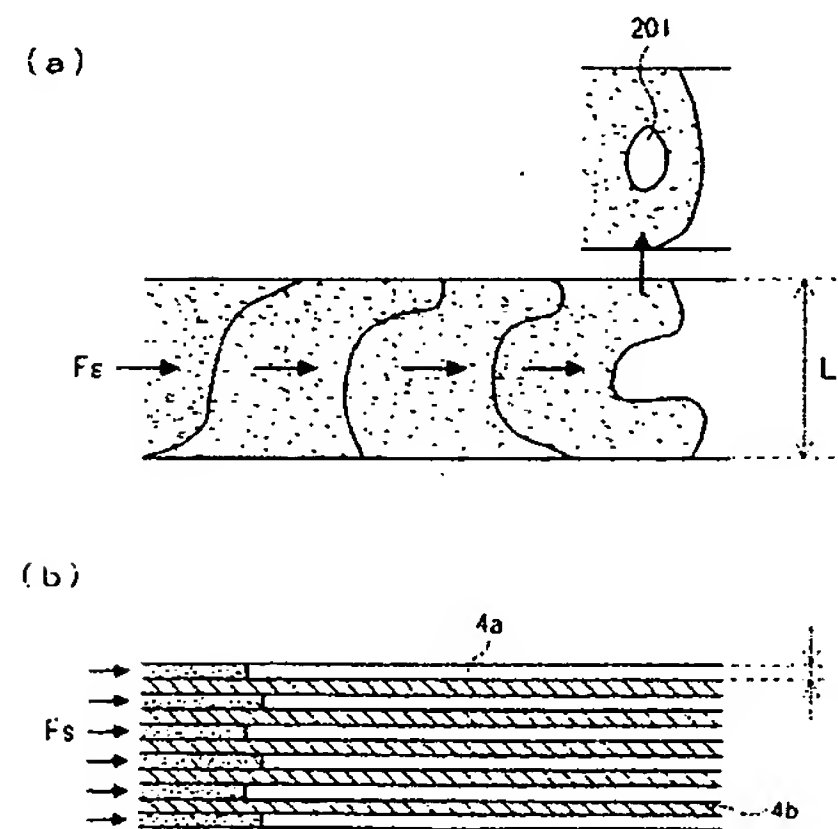
【図3】



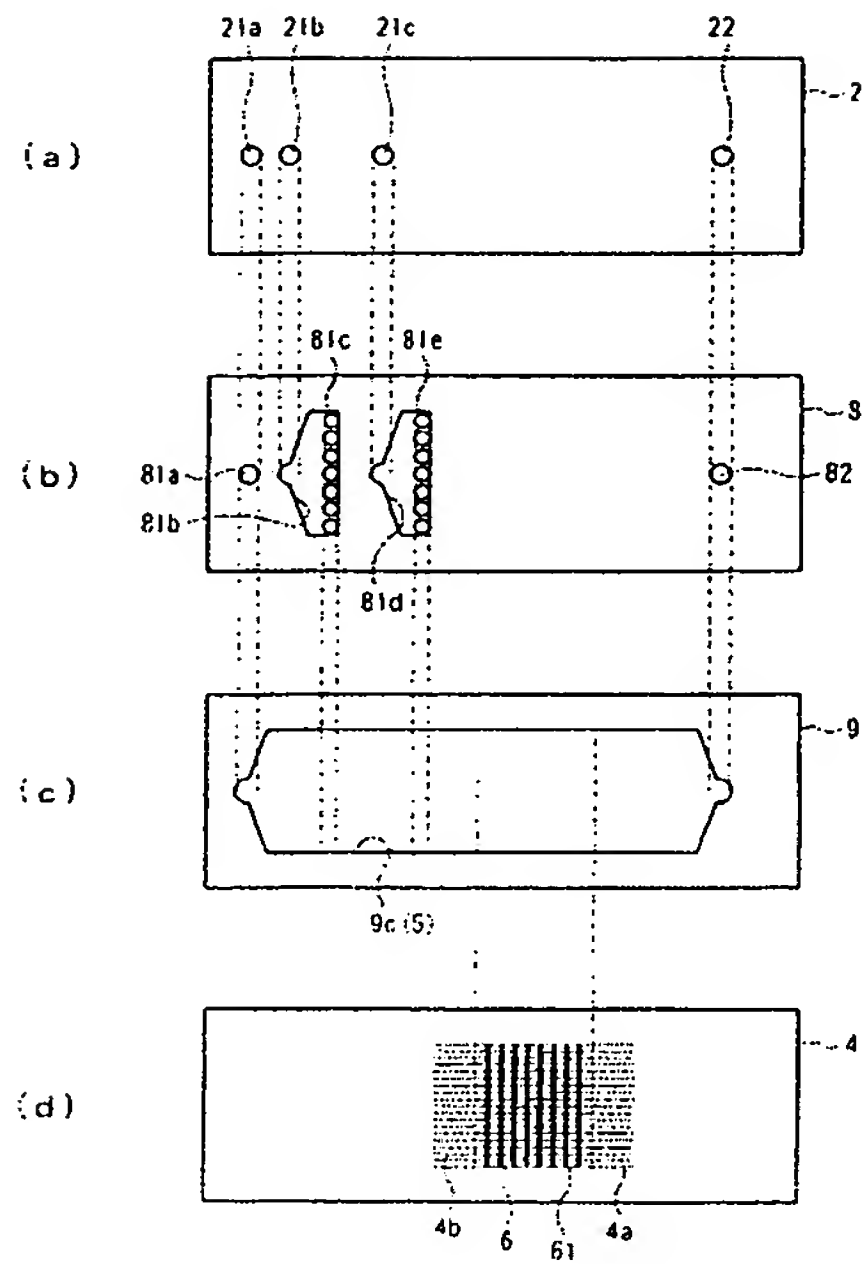
【図4】



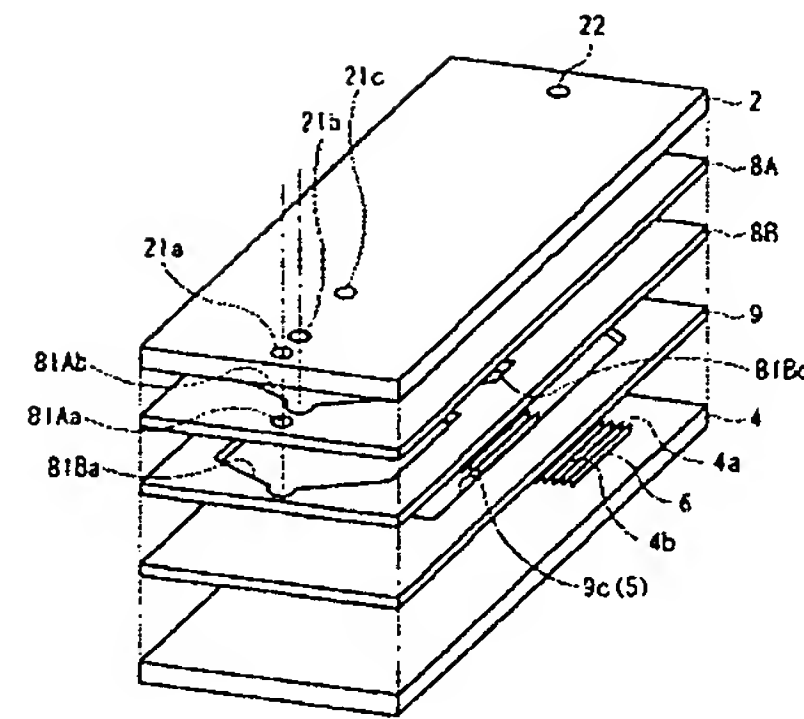
【図5】



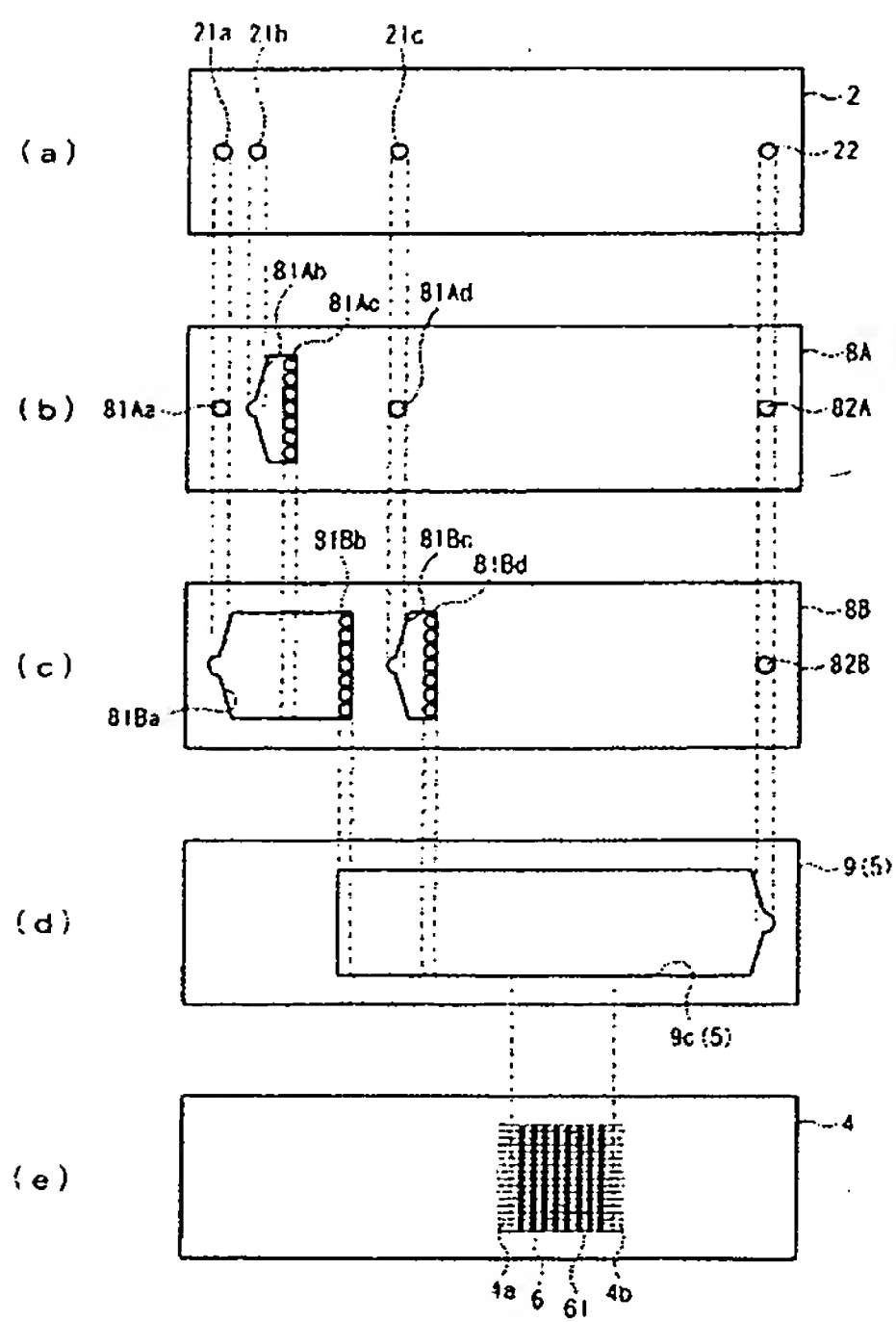
【図6】



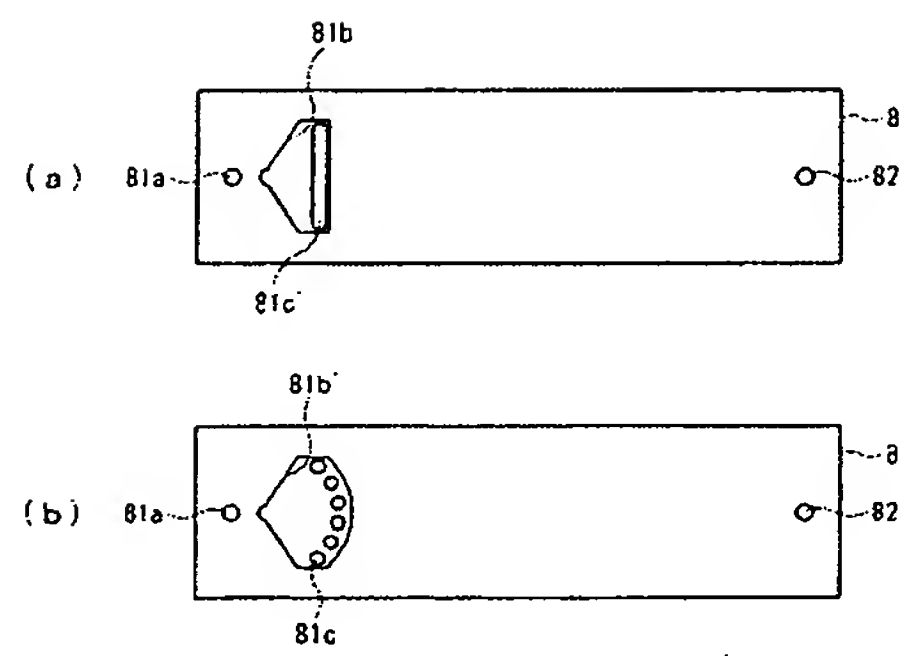
【図7】



【図8】

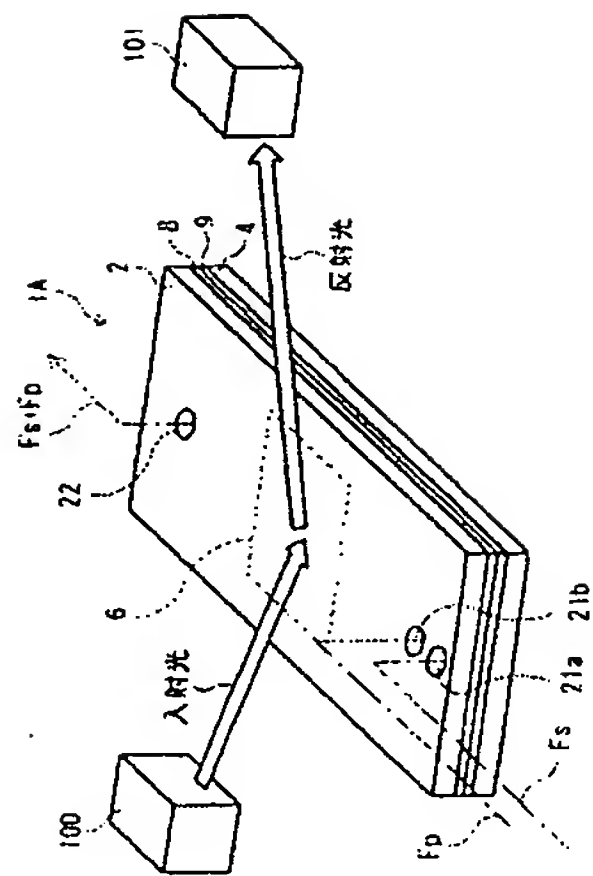


【図9】

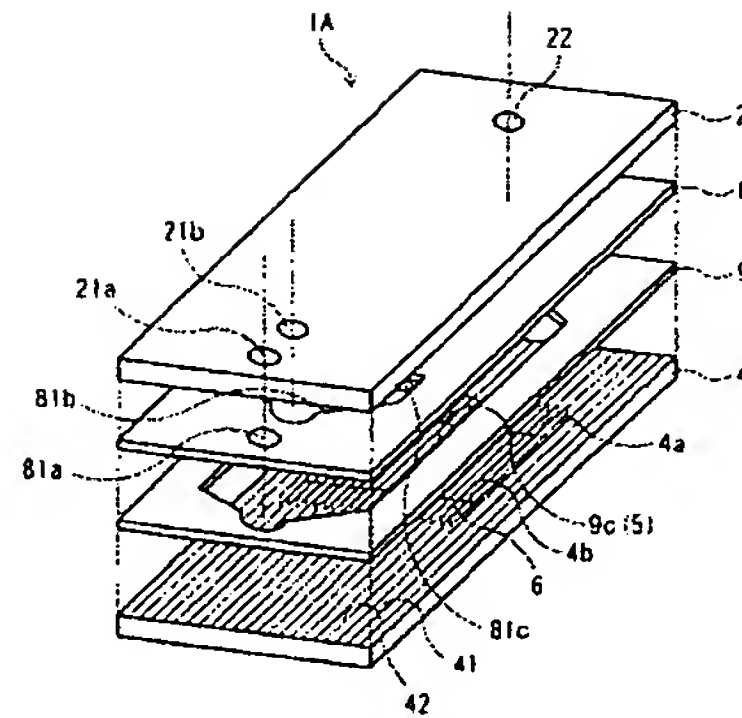




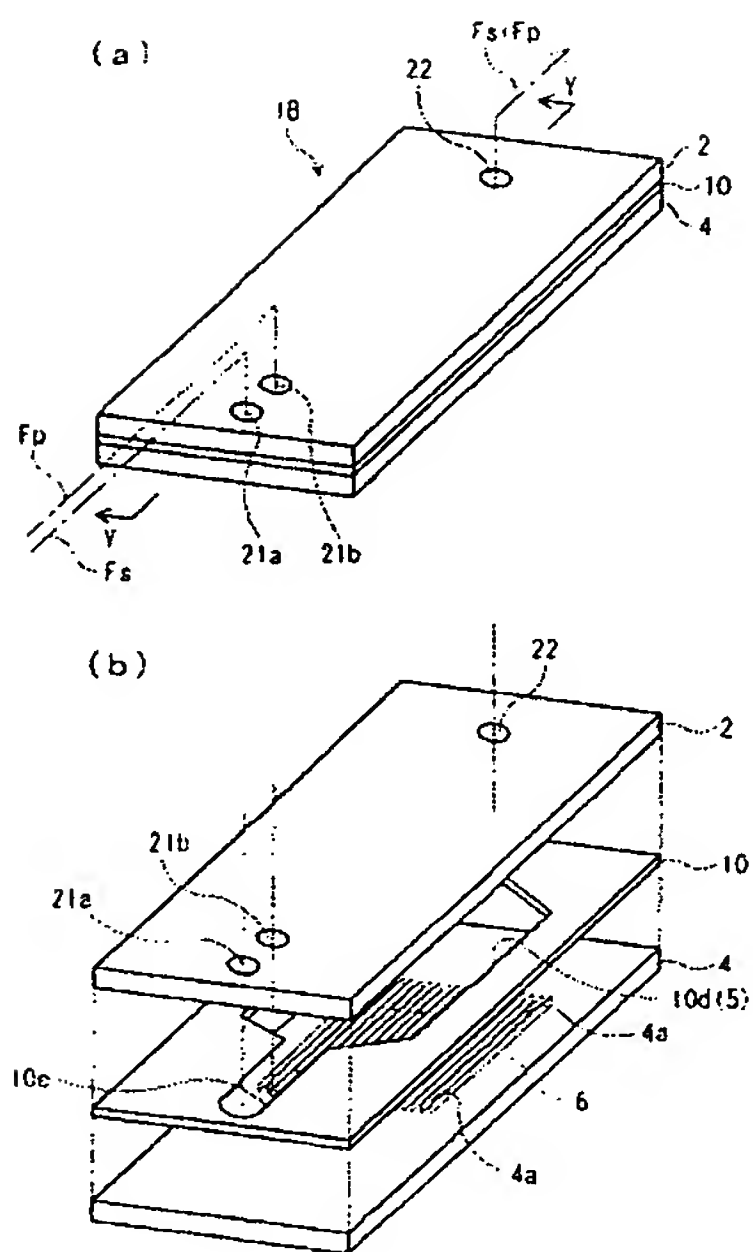
【図10】



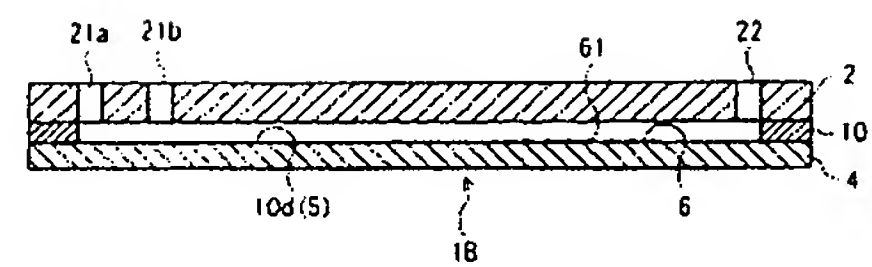
【図11】



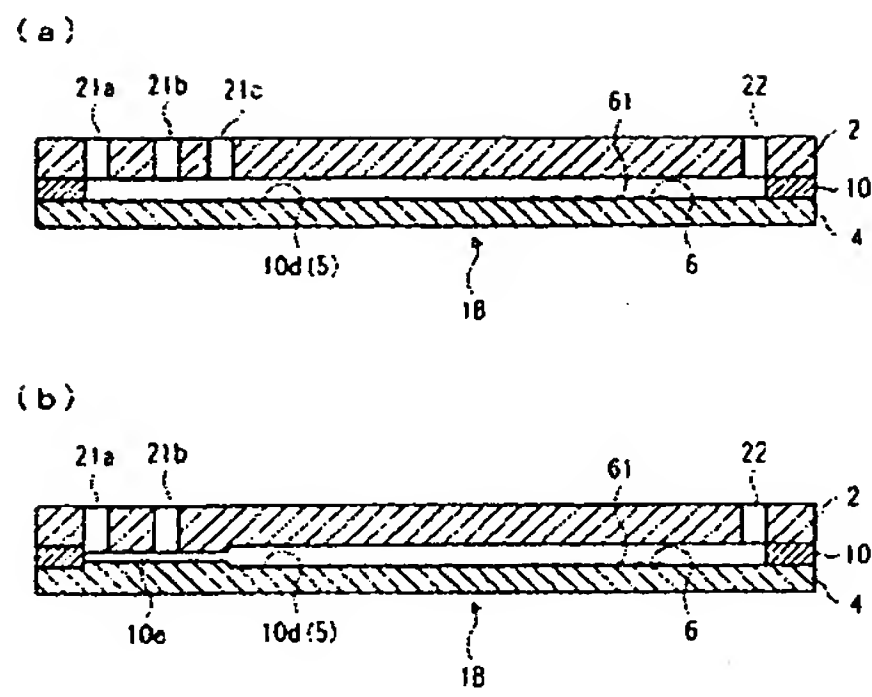
【図12】



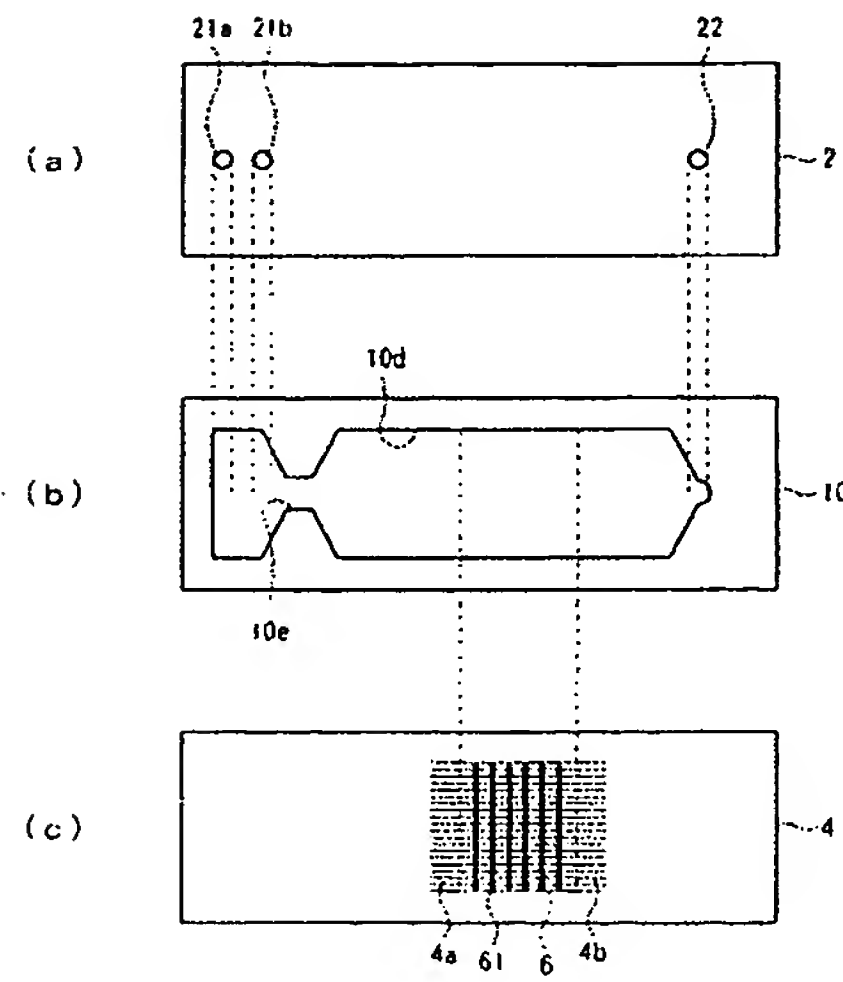
【図13】



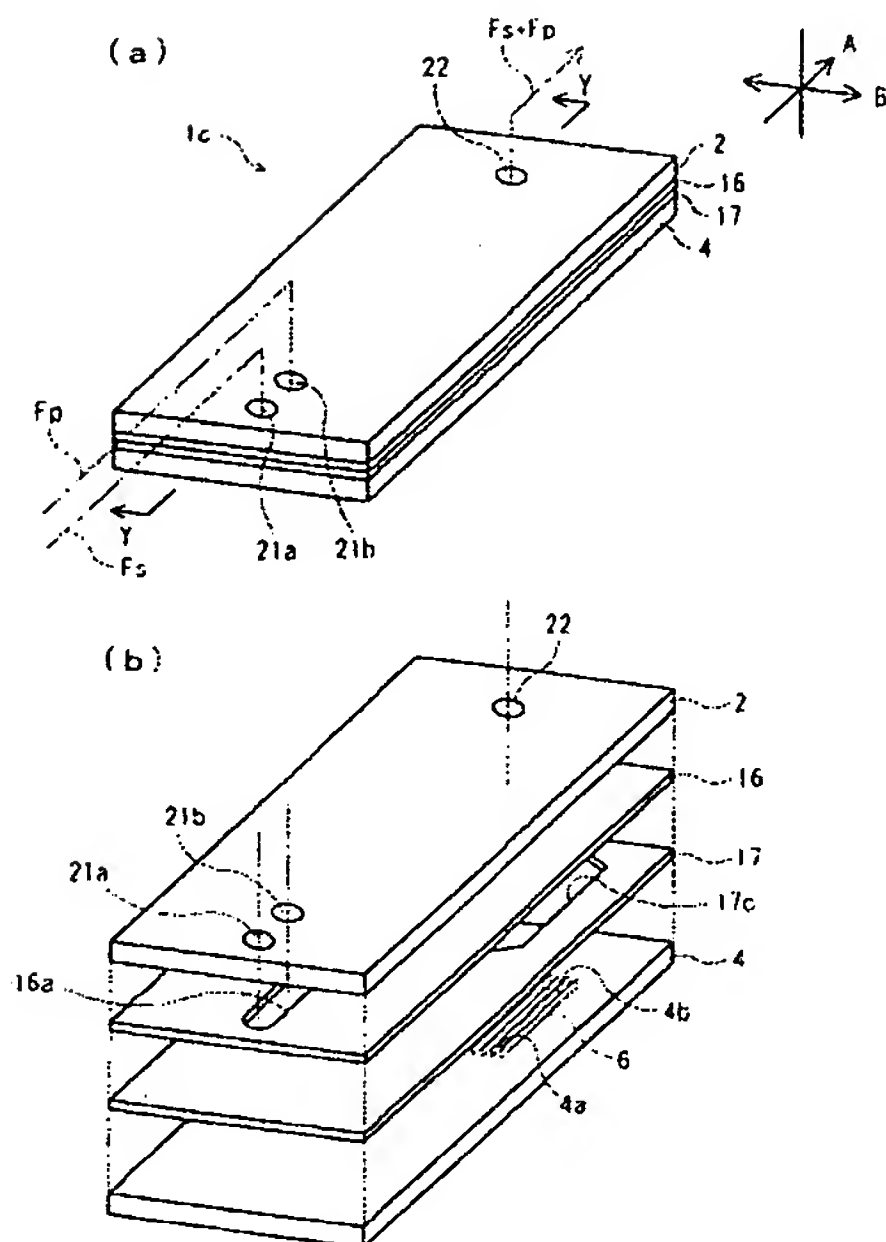
【図15】



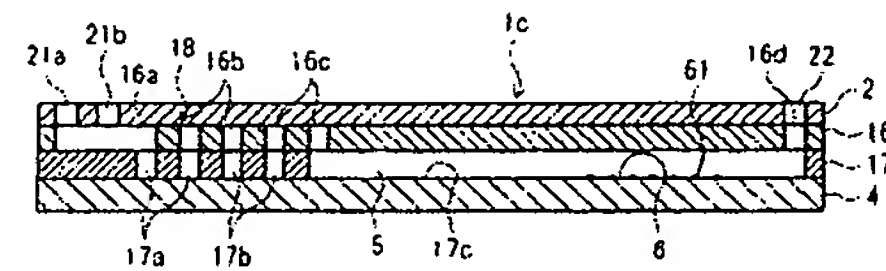
【図16】



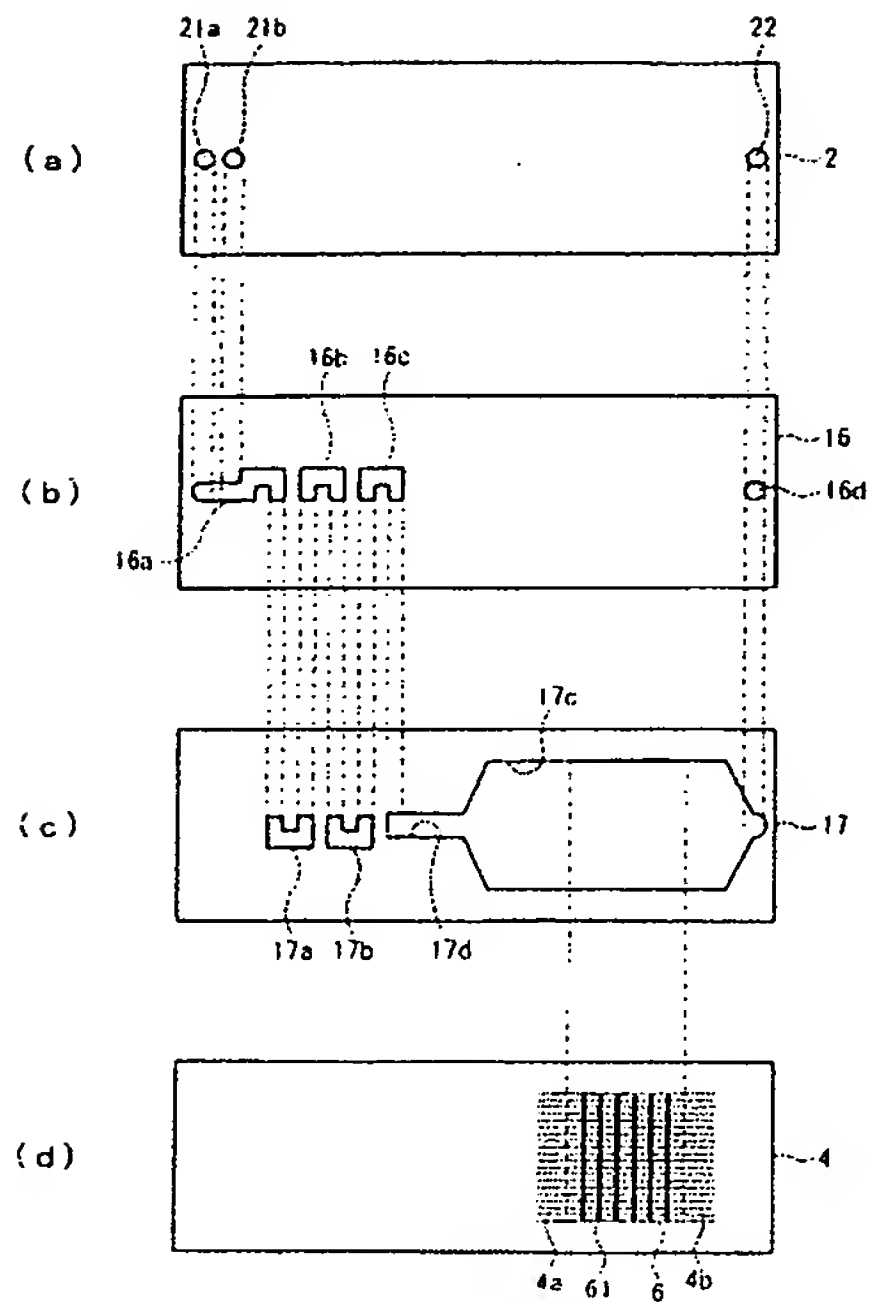
【図17】



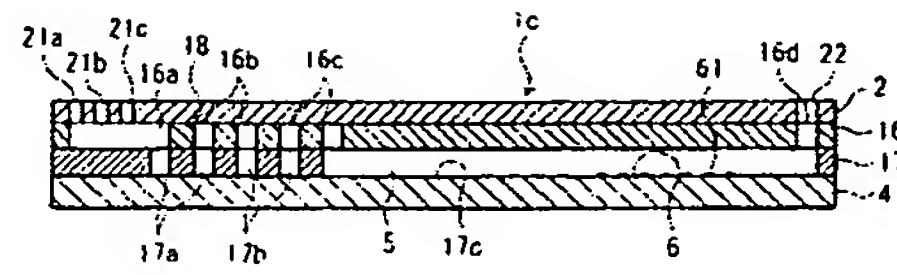
【図18】



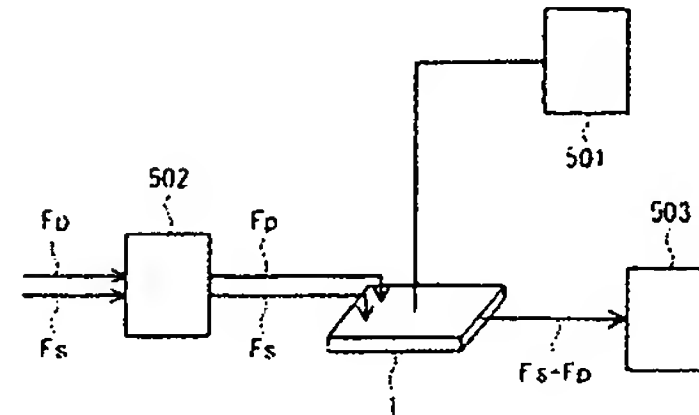
【図19】



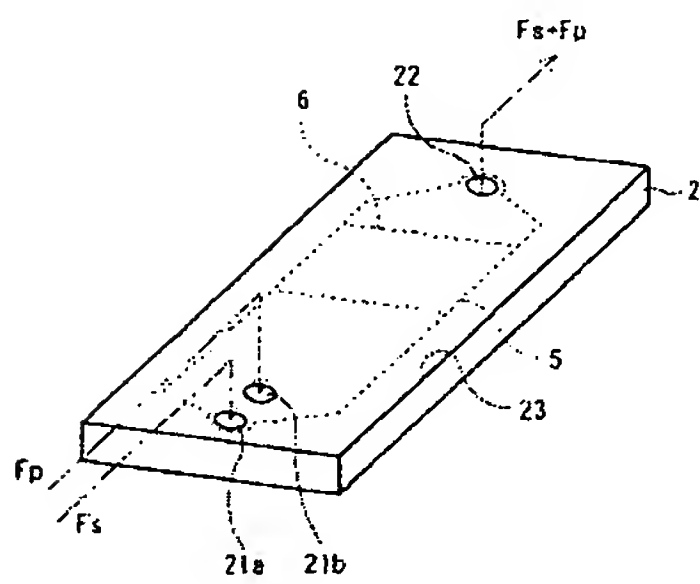
【図20】



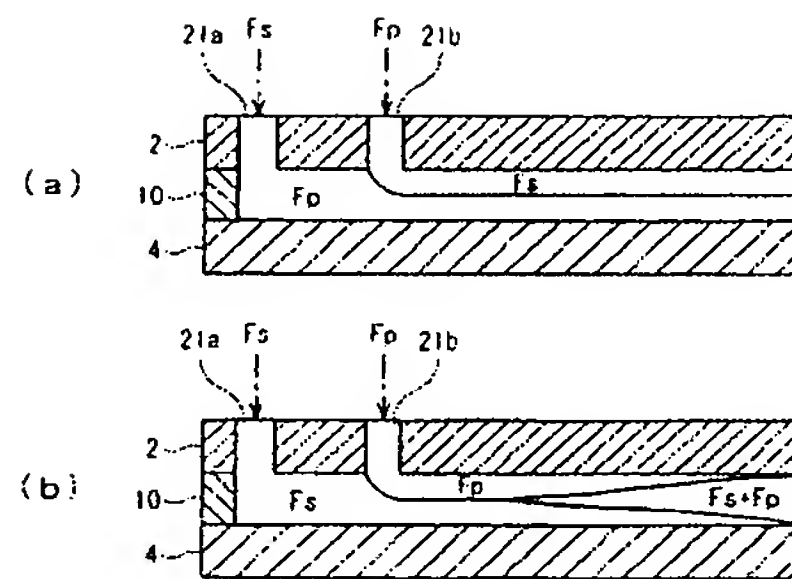
【図21】



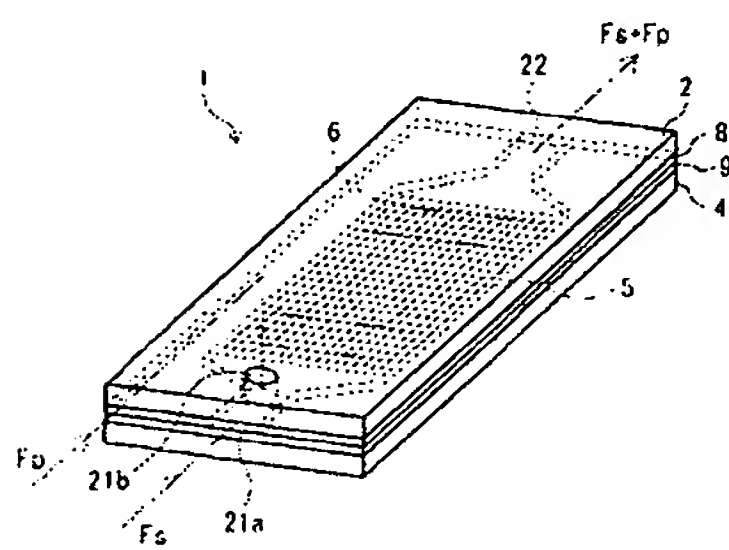
【図22】



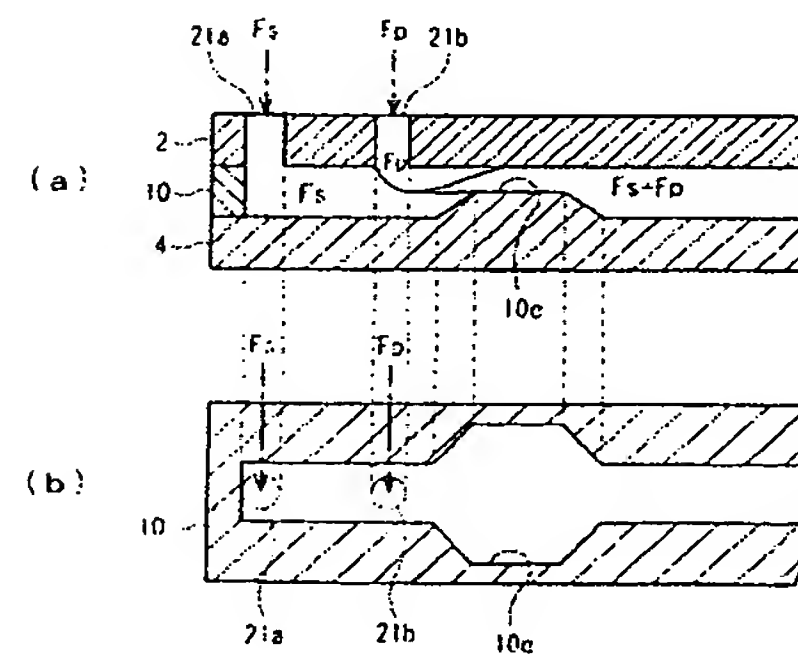
【図24】



【図23】



【図25】



(51)Int.Cl.<sup>7</sup>

F I

テーマコード (参考)

G 0 1 N 37/00 1 0 2